Über das Phlein

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Hansischen Universität Hamburg

vorgelegt von

OUAY KETU-SINH
Dr. med.
aus Bangkok, Thailand (Siam)

Hamburg 1939

Genehmigt von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Hansischen Universität Hamburg
auf Antrag von Herrn Professor Dr. H. H. Schlubach

Hamburg, den 20. 9. 1939.

gez. Koch,
Dekan i. V.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dissertationsdruck A. Preilipper, Hamburg 11, Admiralitätsstr. 16 - Ruf: 36 50 8

MEINEN LIEBEN FREUNDEN!

Die vorliegende Arbeit wurde im Chemischen Staatsinstitut der Hansischen Universität auf Anregung von Herrn Professor Dr. H. H. Schlubach ausgeführt.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. H. Schlubach, der mit Rat und Tat die Ausführung dieser Arbeit jeder Zeit unterstützte, meinen ergebensten Dank aussprechen zu dürfen.

Hamburg, im November 1939.

Ouay Ketu-Sinh.

Inhaltsübersicht:

Theoretischer Teil

A. EINLEITUNG

Seite 9

Die Erforschung der Polysaccharide
Theorien über den Bau des Polysaccharidmoleküls
Bedeutung der Polyfructosane

B. DAS PHLEIN

Seite 11

Bisherige Arbeiten über das Phlein
Gewinnung des reinen Phleins — Direkte Reinigung — Umfällung mit Äthanol — Eigenschaften der gereinigten Substanz — Reinigung über das Acetat — Acetylierung — Eigenschaften des Acetats — Zurückgewinnung des Phleins
Konstanten des Phleins — Spezifische Drehung — Teilchengröße — Halbumsatzzeit — Reduktionswert — Schmelzpunkt
Der Baustein des Phleins — Fructose — Aldose

C. KONSTITUTIONSERMITTLUNG

Seite 17

Methylierung — Eigenschaften des Trimethylpleins
Säurespaltung
Untersuchung der Spaltprodukte
Die Konstitution des Phleins — Die Struktur des Moleküls — Das Bindungsprinzip im Molekül — Die Größe des Moleküls — Das Formelbild

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Seite 22

Zur Unterstützung der Ringtheorie
Eigentümlichkeiten des Phleins
Phlein, Irisin, Inulin
Phlein, Lävan, Poa-in, Secalin
Das rechtsdrehende Acetat
Die Phlein-Gruppe

E. ANHANG

GESETZMÄSSIGKEITEN DER POLYFRUCTOSANE

Seite 28

Natürliche Gruppierung
Beziehungen zwischen den Eigenschaften
Schaubildmäßige Darstellung der Beziehungen
Anwendungsmöglichkeiten

F. ZUSAMMENFASSUNG

Seite 36

Versuchsteil

A. PHLEIN

Seite 39

Gewinnung und Reinigung — 1. Darstellung des Ausgangsmaterials — 2. Reinigung — 3. Entfernung des adsorbierten Alkohols — 4. Einfluß des Auflösens auf das Phlein — 5. Trocknungsversuche — 6. Zum Beweis, daß das Phlein erst nach Abgabe des anhaftenden Wassers durch Temperaturerhöhung abgebaut wird.

Eigenschaften — 7. Spezifische Drehung — 8. Einheitlichkeitsbeweis — 9. Aschengehalt — 10. Stickstoffgehalt — 11. Reduktionswert

B. ACETYLPHLEIN

Seite 45

Acetylierungsversuche — 12. Acetylierung nach Haworth und Streight — 13. Quellversuch — 14. Nachacetylierung — 15. Acetylierung in wässrigem Pyridin mit Nachacetylierung in absolutem Pyridin — 16. Nachacetylierung in derselben Lösung — 17. Acetylierung in Stufen — 18. Endgültiges Verfahren

Eigenschaften — 19. Reinigung des Acetats — 20. Acetylbestimmung — 21. Spezifische Drehung — 22. Schmelzpunkt

Entacetylierungsversuche — 23. Entacetylierung nach Zemplén — 24. Entacetylierung nach Pringsheim und Aronowsky — 25. Entacetylierung mit wässriger Natronlauge — 26. Entacetylierung mit kalter Kalilauge

C. KONSTANTEN DES PHLEINS

Seite 50

27. Spezifische Drehung — 28. Teilchengröße — 29. Halbumsatzzeit — 30. Drehungsverlauf während der Hydrolyse — 31. Aldosewert — 32. Reduktionswert — 33. Schmelzpunkt

D. METHYLPHLEIN

Seite 53

34. Methylierung — 35. Reinigung — 36. Spezifische Drehung — 37. Schmelzpunkt — 38. Teilchengröße

E. KONSTITUTION DES PHLEINS

Seite 55

Probespaltung — 39. Spaltung — 40. Hochvakuumdestillation — 41. Untersuchung der Destillate

Hauptspaltung — 42. Spaltung — 43. Hochvakuumdestillation

Untersuchung der Destillate — 44. Untersuchung der Kristalle — 45. Die Mutterlaugen der ersten zwei Fraktionen — 46. Die Mutterlauge der letzten Fraktion — 47. Der Rückstand

SCHRIFTTUM

Seite 61

Theoretischer Teil

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548128_0236

A. EINLEITUNG

Die Erforschung der Naturprodukte ist stets eine vielfach dankbare Aufgabe. Nicht nur führt sie uns in die wunderbare Welt der Geheimnisse der Natur, sondern auch hilft sie uns, die kostbaren Schätze herauszuholen. Ist doch die ganze chemisch-technische Entwicklung aus Beobachtungen und Nachahmungen der natürlichen Vorgänge hervorgegangen. Die Natur ist unser großer Lehrmeister, und trotz großer Besterbungen, sie in verschiedenen Richtungen zu übertreffen, im Großen und Ganzen wird der Mensch doch noch lange von ihr abhängig bleiben. Es ist wahr, daß in manchen Gebieten wichtige Fortschritte gemacht und schwere Fragen gelöst sind, aber die ungeheure Arbeit, die noch geleistet werden muß, um die Geheimnisse der Natur völlig aufzuklären, ist freilich unübersehbar.

Nehmen wir zu Betrachtung das Gebiet der Polyaccharide, ein ganz kleines Fach aus der riesigen Sammlung Natur, so werden wir uns unserer Unkenntnis bewußt. Welch große Rolle diese Stoffe in unserem täglichen Leben spielen, ist wohlbekannt. Abgesehen von ihrem Gebrauch als Lebensmittel dienen sie verschiedenen wichtigen Zwecken. Größtenteils im Pflanzenreich verbreitet, stellen sie eine praktisch unerschöpfliche Rohstoffquelle dar. Allein auf der Verarbeitung von Cellulose sind großartige Industrien aufgebaut. Aus den Derivaten der Polysaccharide sind eine große Anzahl der wirksamsten und unersetzlichen Heilmittel gewonnen. Trotz dem hohen Stand der heutigen chemischen Entwicklung ist die Anwendungsmöglichkeit der Polysaccharide noch weit entfernt von vollständiger Ausnutzung, und es ist kaum vorstellbar, zu welch anderen wichtigen Nutzen diese kompliziert gebauten Stoffe herangezogen werden können, wenn sie wirklich zweckmäßig ab- und aufgebaut werden. Die Ausmaße unserer Kenntnis dieser Substanzen entsprechen in keiner Weise ihrer Wichtigkeit. Wir kennen sie nur wenig, und dann auch nur oberflächlich und undeutlich.

Um eine der wesentlichsten Fragen, die Bauart des Polysaccharidmoleküls, wird heutzutage, trotz der Anstrengungen zahlreicher bekannter Forscher, noch scharf gestritten. Als klassisch gilt die von Emil Fischer aufgestellte Anschauung, daß die Polysaccharide lange, kettenförmige Moleküle besitzen. Diese Vorstellung hat besonders tatkräftige Vertreter in den Arbeitskreisen von W. N. Haworth (16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 25) und von K. Freudenberg (11, 12) gefunden. H. Staudinger (50, 51) versucht,

durch Forschungen an künstlich erzeugten Hochpolymeren die Kettentheorie zu verstärken, aber es ist zweifelhaft, ob seine Ergebnisse überhaupt auf die natürlichen Stoffe übertragen werden können. Haworth und Mitarbeiter haben durch analytische Untersuchungen nach der von Haworth eingeführten Acetylierung-Methylierung-Spaltungstechnik an Hochpolymeren, wie Cellulose, Maisstärke, Amylose, Inulin u. a., scheinbar wichtige Anhaltspunkte zum Aufrechterhalten der klassischen Theorie gebracht. Sie gehen von dem Grundgedanken heraus, daß das methylierte Polysaccharid an einem Ende der Kette Tetramethylhexose enthält, während an dem anderen Ende die reduzierende Gruppe Platz hat. Durch quantitative Bestimmung dieser Endgruppen hoffen sie, die Kettenlänge berechnen zu können. Dies gelingt ihnen auch, so lange sie nach dem Gehalt an Tetramethylhexose rechnen. Aber die Berechnung nach dem Reduktionswert versagt völlig. Sie ergibt immer zu hohe Werte, und Haworth muß zur Annahme greifen, daß die reduzierende Gruppe durch Oxydation oder Anhydridbildung außer Tätigkeit versetzt worden ist. Eine andere empfindliche Schwäche liegt in der Auffindung von Dimethylhexose in den Spaltprodukten mehrerer Polysaccharide, wofür keine befriedigende Erklärung nach der Haworth'schen Theorie gegeben werden kann, und Haworth sieht sich gezwungen, diese Verbindung als ein durch unvollständige Methylierung entstandenes Nebenprodukt zu betrachten.

Zu diesen kommen noch die Veröffentlichungen von Bell (4) und von Heß und Neumann (29) über Cellulose, in welchen es sehr wahrscheinlich gemacht wird, daß die von Haworth zur Berechnung der Molekülgröße herangezogene Trimethylglucose durch unzweckmäßige Behandlung des Polysaccharids künstlich entstanden ist. Damit ist Haworths stärkste Stütze heftig erschüttert. Aus seinen Versuchsergebnissen schließt Heß, daß Cellulose ein ring-förmiges Molekül besitzt.

Inzwischen erfassen verschiedene Forscher die Tatsache, daß weder unsere Methode noch Erfahrung ausreichen, das Problem der Poly, saccharide richtig zu entwirren. Gegenüber dem komplizierten Bau dieser Stoffe erscheint die klügste Methode recht einfach. Überdies besitzen die hochpolymeren Kohlenhydrate Besonderheiten, wie Temperatur empfindlichkeit, leichte Spaltbarkeit, Undestillierbarkeit und kolloidale Eigenschaften, welche ihre Untersuchung noch weiter erschweren. Es beginnt daher die Entwicklung in einer anderen Richtung, die Suche nach einfacher gebauten Beispielen, wobei man hofft, außer der Möglichkeit einer direkten Übertragung der Ergebnisse auf die schwierigeren Sachen, Erfahrung zu sammeln und Arbeitsmethoden zu verbessern, um später die Hochpolymeren besser und erfolgsicherer angreifen zu können.

Auf dieser Suche gelangt man zu den Polyfructosanen, die mit ihrem mittelpolymeren Aufbau sich für den Zweck als besonders geeignet erwiesen haben. Vor allem in den Händen von Schlubach und seinen Mitarbeitern ermöglichen sie es, wichtige Aufschlüsse hinsichtlich der Bauart der Polysaccharide zu gewinnen. Aus den Ergebnissen von Untersuchungen an mehreren Polyfructosanen (43, 45, 46, 47, 10, 48, 2, 35) stellt Schlubach die folgenden grundsätzlichen Tatsachen fest: erstens, die Polyfructosane haben keine reduzierende Wirkung; zweitens, Di- sowie

Tetramethylfrutose, wenn sie überhaupt vorhanden sind, sind integrierende Bestandteile des methylierten Polyfrutosans und treten immer in äquivalenter Menge auf; drittens, der theoretische Methoxylgehalt methylierter Polyfructosane beträgt 45,6%. Diese Feststellungen sind die Grundlage, worauf die von Schlubach vorgeschlagene Theorie der Ringstruktur der Polyfrutosane fußt. Sie stellt zweifellos eine wohlbegründete Anschauung dar, zumal sie Erklärungen für die sonst schwer zu deutenden Versuchsergebnisse ermöglicht und sich bisher in allen Fällen sehr gut bewährt hat. Während die Anhänger der Kettentheorie versuchen, die Auffindung von Dimethylfructose in den Spaltprodukten auf eine unvollkommene Methylierung zurückzuführen, sehen die Vertreter der Ringtheorie in ihr den Beweis, daß das ringförmige Molekül Seitenketten besitzt. Sie erklären, daß aus demjenigen Frutosereste, der am Ringaufbau beteiligt ist und gleichzeitig eine Seitenkette trägt, eine Dimethylfructose gebildet wird, während der Fructoserest, der die Seitenkette selbst darstellt, zur Tetramethylfructose führt. Demnach treten diese beiden Methylfructosen stets in äquivalenter Menge auf, und der Methoxylgehalt des methylierten Fructosans kann niemals den Wert 45,6% überschreiten. Da in dem abgeschlossenen Molekül freie, reduzierende Gruppen nicht vorhanden sind, kann das Polyfructosan keine reduzierende Wirkung besitzen. Die Überlegenheit dieser Theorie ist leicht ersichtlich; die Möglichkeiten, die sie mit sich bringt, sind wirklich beachtenswert. Es ist nur noch die Frage des Beweismaterials zu klären, das in genügender Fülle erbracht werden muß, um den Wert und die Standhaftigkeit dieser Theorie sicherzustellen.

Es ist die Hoffnung des Verfassers, durch die Ausführung der vorliegenden Arbeit nicht nur einen Beitrag zu unserer Kenntnis der Polysaccharide zu leisten, sondern auch an dem Aufbau dieser vielversprechenden Ringtheorie der Polyfrutosane ein wenig mitwirken zu dürfen.

B. DAS PHLEIN

Bisherige Arbeiten über das Phlein

Ein bisher wenig untersuchtes Polysaccharid ist das Phlein, ein von Ekstrand benanntes und von ihm und seinen Mitarbeitern (7, 8, 9) aus den unterirdischen Verdickungen des Stengels — den sogenannten „Knollen" — von Phleum pratense (Wiesenlieschgras) durch Umfällung der enteiweißten wässrigen Auszüge mit Alkohol gewonnenes Kohlenhydrat. Die Forscher fanden, daß die Substanz bei der Säurespaltung nur Fructose lieferte und stellten damit fest, daß sie den Polyfrutosanen angehörte. Nach Reinigung der Substanz durch Umfällung mit Äthanol erhielten sie ein Produkt, das eine spezifische Drehung von —48,12° in Wasser aufwies und nur bis 3,26% in Wasser löslich war. Abgesehen von einer Molekülargewichtsbestimmung wurde keine nähere Untersuchung ausgeführt.

Außerdem isolierten dieselben Forscher aus verschiedenen Gräsern, wie Phalaris arundinacea, Calamagnostis agrostis und Trisetum hirochloa, ein Kohlenhydrat, von dem sie auf Grund der Ähnlichkeit in der spezifischen Drehung und Löslichkeit glaubten, daß es mit Phlein identisch wäre.

In seinen Veröffentlichungen machte Ekstrand darauf aufmerksam, daß die spezifische Drehung sowie die Löslichkeit des Phleins denen des Irisins auffallend ähnlich waren. Dasselbe empfand auch Herr Professor Schlubach bei einer vorbereitenden Untersuchung am Phlein; ihm schien es nicht ausgeschlossen, daß das Phlein mit dem Irisin identisch wäre. Die Aufklärung dieser Frage stellt daher, neben einer Untersuchung der Eigenschaften und der Bauart des wenig bekannten Phleins, Ziel und Zweck dieser vorliegenden Arbeit dar.

Gewinnung des reinen Phleins

Das Ausgangsmaterial für die folgenden Versuche wurde nach dem bekannten Verfahren aus enteiweißten wässrigen Extrakten der das Phlein enthaltenden Pflanzenteile gewonnen. Es kamen in Frage die „Knollen" des Wiesenlieschgrases, Phleum prantense var. nodosum (L.). Aus etwa 15 kg des Grases, welches Anfang März 1939 geerntet und von Herrn Professor Dr. Bredemann vom Institut für Angewandte Botanik freundlichst zur Verfügung gestellt worden war, wurde eine verhältnismäßig geringe Menge scheinbar partiell abgetrockneter Knollen, nicht ganz 2,5 kg, gesammelt. Die gesäuberten Pflanzenteile wurden unter Zusatz von Calciumcarbonat, welches die eventuell frei gewordenen organischen Säuren neutralisieren sollte, im Mörser zerstampft und mit 40-grad-warmem Wasser ausgezogen. Nach nochmaligem Extrahieren des Preßrückstandes mit Wasser bei 60° war das Phlein annähernd vollkommen ausgezogen. Die beiden Auszüge wurden vereinigt, durch Versetzen mit basischem Bleiacetat von Eiweiß befreit und mit Schwefelwasserstoff entbleit. Die wässrige Lösung wurde im Vakuum eingedampft und mit überschüssigem Äthanol versetzt. Ein braun gefärbter, flockiger Niederschlag setzte sich bald ab. Die Rohausbeute betrug 80 g, 5,3% der frischen Knollen. Eine Probe dieses Rohproduktes zeigte eine spezifische Drehung von —30,3° (Wasser, c = 1, 1 dm). (Vers. 1).

Die Ausbeute war sehr schlecht im Vergleich zu derjenigen einer früher vorgenommenen Aufarbeitung, wobei aus 5,6 kg Knollen von Ende Oktober 1937 geerntetem Phleum beinahe 500 g Rohphlein mit einer spezifischen Drehung von —33,10° erhalten wurden, welches eine Ausbeute von rund 9% darstellte. Von diesem Produkt gelangten 450 g in meine Hände, und ich hatte Gelegenheit, sein Verhalten bei der Reinigung mit dem des selbst gewonnenen Produktes zu vergleichen. Dabei wurde beobachtet, daß die von mir aufgearbeitete Substanz scheinbar leichter löslich in Wasser war und erst bei einer höheren Alkoholkonzentration ausfiel. Ferner war sie von einem in Wasser schwer löslichen, in Alkohol unlöslichen, hellbraunen Begleitstoff verunreinigt, welcher die Reinigung sehr verzögerte. Diese Unterschiede waren wahrscheinlich auf die Verschiedenheit in der Erntezeit zurückzuführen, weil es denkbar war, daß die Pflanze am Ende des Winters ihr Reservekohlenhydrat irgendwie verwandelt haben konnte. Um die Gefahr uneinheitlicher Ausgangssubstanzen auszuschließen, wurde auf das selbst gewonnene Produkt verzichtet, und nur die übernommenen Phleinfraktionen wurden zur Untersuchung verwandt.

Das Phlein zeichnete sich besonders durch seine Schwerlöslichkeit aus. Nach Ekstrand (7, 8, 9) sollten 3,26 Teile der Substanz in 100 Teilen Wasser löslich sein. Es wurde ferner gefunden, daß die Anwesenheit von Verunreinigungen die Löslichkeit positiv beeinflußte, da mit steigendem Reinheitsgrad die Löslichkeit schnell abnahm. Daher wurde bald im Laufe der Reinigung die Schwierigkeit angetroffen, daß die Substanz nicht zu einer genügend konzentrierten Lösung gebracht werden konnte. Sogar eine einprozentige Lösung, welche zur Bestimmung der spezifischen Drehung benutzt wurde, konnte nicht erzielt werden. Längeres Schütteln mit Glasperlen hatte keinen Einfluß, und kein anderes Lösungsmittel war brauchbar. Endlich mußte widerwillig vom Erwärmen Gebrauch gemacht werden. Ist doch bei der Handhabung von Polysacchariden ein sorgfältiges Schonen der Substanz gegen die Einwirkungen von Säuren, Basen und Hitze stets zu beachten. Wenn hier also die Anwendung von Wärme nicht zu vermeiden war, wurde es vorgesehen, daß die Substanz nur während der wirklich benötigten Zeit erwärmt wurde.

Die Auflösung des Phleins bis zu einer Konzentration von 5 bis 8% wurde vollbracht, indem die fein geriebene Substanz mit der geeigneten Menge Wasser in einem Rundkolben zuerst eine Zeitlang bei Zimmertemperatur umgerührt, dann in ein Wasserbad von 80° eingetaucht wurde. Unter kräftigem Rühren ging das Phlein in einigen Minuten in Lösung, wobei die Temperatur des Kolbeninhalts nur bis 65° oder 70° anstieg. Sobald die völlige Auflösung eingetreten war, konnte die Lösung unter der Wasserleitung schnell abgekühlt werden, ohne ein Ausscheiden des Gelösten hervorzurufen (Vers. 2). Ein Versuch (Vers. 4) zeigte, daß solche Behandlung weder die spezifische Drehung noch den Reduktionswert des Phleins beträchtlich beeinflußte.

Auch die für die Bestimmung der spezifischen Drehung genommenen Lösungen mußten in dieser Weise bereitet werden.

Das Phlein wurde durch Umfällung mit Äthylalkohol aus wässriger Lösung gereinigt. Dabei erwies sich seine Schwerlöslichkeit als eine sehr günstige Eigenschaft, denn die Substanz fiel als ein feinflockiger Niederschlag aus, der sich von der Mutterlauge, in welcher die Verunreinigungen sich anreicherten, sehr leicht abtrennen ließ. Überdies war das Phlein in kaltem Wasser so wenig löslich, daß das Auflösen in Wasser allein eine beachtenswerte Trennung von den leicht löslichen Begleitstoffen bewirkte. Außerdem wurden unangenehme Kollodaleigenschaften der Lösung, vor allem die Adsorption, welche die Reinigung sonst sehr erschweren könnte, durch die kleine Unlöslichkeit weitgehend herabgesetzt. Alle diese Wirkungskräfte waren zweifellos maßgebend, daß die Reinigung des Phleins so leicht und rasch vor sich ging, wie solche für ein Polyfructosan noch nicht angetroffen worden war. Während für die anderen Polyfructosane 50 bis 80 Umfällungen notwendig waren, um einen gewissen Reinheitsgrad zu erreichen, wurde beim Phlein schon nach 6 Umfällungen der Endwert der spezifischen Drehung (—50,0°) erreicht (Vers. 2), und nach 12 Umfällungen, wobei die spezifische Drehung in den letzten 7 Fällen unverändert blieb (Vers. 7), konnte die Reinigung als beendet angesehen werden. Diese Annahme wurde unterstützt durch eine Verfolgung der spezifischen Drehung der Mutterlaugen, welche sich

derjenigen der ausgefallenen Substanz langsam näherte und schließlich praktisch mit ihr übereinstimmte (Vers. 7).

Zum Zweck der Bestimmung der spezifischen Drehung wurde die Substanzprobe zunächst einmal mit Wasser abgedampft, wodurch der anhaftende Alkohol, der sonst eine Verzögerung der Reinigung vortäuschen könnte (34, 37, 49, 6), restlos entfernt wurde (Vers. 3). Dann wurde sie 2 Stunden bei 40° im Wasserstrahlvakuum vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet, wenn die tiefste, konstant reproduzierbare Drehung erreicht wurde, wie ausführliche Trocknungsversuche ergaben (Vers. 5).

Beiläufig deuteten die Trocknungsversuche darauf hin, daß das Phlein, wie manche andere Fructosane, z. B. das Sinistrin (37), in dem trocknen Zustand besonders temperaturempfindlich war, was aus dem Anstieg der spezifischen Drehung zu ersehen war, welcher erst eintrat, wenn die Substanz länger als für das Erreichen der tiefsten Drehung erforderlich erwärmt wurde. Ein besonderer Versuch wurde daher angesetzt, um diesen Hinweis auf dem Experimentalwege zu bestätigen (Vers. 6). Waren dieErgebnisse wegen schwankender Werte und ungenügender Wiederholung nicht ganz einwandfrei, zeigten sie doch wenigstens, daß das enthaltende Wasser eine schonende Wirkung, sei es direkt oder indirekt, auf das Kohlenhydrat ausübte.

Die spezifische Drehung des gereinigten Phleins, wie beschrieben vorbehandelt, betrug —50,0° (Wasser, c = 1, 1 dm). Die Substanz war einheitlich, stickstoffrei, und hatte einen unbedeutenden Aschengehalt und einen geringen Reduktionswert (Vers. 7—11).

Phleinacetat

Um einen zusätzlichen Beweis für die Einheitlichkeit der durch Umfällung gewonnenen Substanz beizubringen und, wenn möglich, zu einem noch reineren Produkt zu gelangen, mußte ein anderes Reinigungsverfahren zur Anwendung gelangen. Solche Vorsicht ist notwendig, weil die Kohlenhydrate im Allgemeinen die besonders unangenehme Eigenschaft eines hohen Adsorptionsvermögens besitzen, welche ihre Befreiung von Begleitstoffen und Trennung von einander durch physikalische Maßnahmen sehr erschwert. So ist es mitunter vorgekommen, daß Gemische mehrerer Polysaccharide als einheitliche Substanzen angesehen wurden (6, 34). Unter den verschiedenen Methoden hat sich die Reinigung über die Acetylverbindung als besonders zweckmäßig erwiesen, weil durch die Acetylierung gewöhnlich die physikalischen sowohl als auch die chemischen Eigenschaften des Kohlenhydrats so geändert werden, daß die Reinigung sowie die Abtrennung von Komponenten sehr erleichtert werden. Durch Verseifung des Acetats kann das unsubstituierte Kohlenhydrat in reiner Form leicht zurückgewonnen werden, und ein Vergleich seiner Eigenschaften mit denen der durch Umfällung gereinigten Substanz stellt einen sehr zuverlässigen Beweis für die Einheitlichkeit des erhaltenen Produkts dar.

Zur Acetylierung des Phleins war das allgemein angewandte Verfahren von Haworth und Streight (15) nicht ohne weiteres brauchbar. Die

Schwerlöslichkeit der Substanz, die sich bei der Reinigung als vorteilhaft erwiesen hatte, wurde verantwortlich für die großen Schwierigkeiten, die hierbei eintraten. Das Kohlenhydrat konnte weder in absolutem noch in wasserhaltigem Pyridin zur Lösung gebracht werden; weder Zeit noch Temperatur war von Nutzen. Nach wiederholtem Mißerfolge (Vers. 12—17) wurde eine Methode ausgearbeitet, die nicht nur die Schwierigkeiten mit Erfolg überwand, sondern auch manche Vorteile in sich schloß (Vers. 18). Die Neuerung betraf hauptsächlich das Auflösen des Kohlenhydrats und seine Behandlung nach der Acetylierung. Die Substanz wurde zunächst in der dreifachen Menge Wasser durch mäßiges Erwärmen zum Quellen gebracht, mit der siebenfachen Menge Pyridin bei erhöhter Temperatur bis zum weitgehenden Auflösen gerührt, durch Abdampfen im Vakuum vom Hauptteil der Lösungsmittel — praktisch von dem ganzen Wasser — befreit und dann, nach Zugabe der für eine zehnprozentige Lösung erforderlichen Menge Pyridin, wieder aufgelöst, wobei eine viel bessere Auflösung als sonst erzielt wurde, und schließlich acetyliert. Nach Beendigung der Acetylierung wurde das Reaktionsgemisch nicht in Eiswasser gegossen, sondern im Vakuum bis zur Trockne eingedampft, dann wieder in Pyridin, dieses Mal in absolutem Pyridin, aufgelöst und nachacetyliert. Die Güte der Methode liegt nicht nur darin, daß eine verhältnismäßig hohe Ausbeute (84% bis 94% der Theorie) erzielt wurde, sondern auch in dem großen Ersparnis an Zeit und Material, das sie mit sich brachte.

Das Acetat des Phleins war ein weißes Pulver, sehr leicht löslich in Chloroform, mäßig löslich in warmem Pyridin, wenig löslich in heißem Eisessig und heißem Tetrachlorkohlenstoff, und sehr schwer löslich in Wasser, Äthanol, Methanol, Aceton, Dioxan und Amylalkohol. Man merkt, wie auch in seiner Acetylverbindung die geringe Löslichkeit des Phleins wieder zum Vorschein kommt. Bei Anwesenheit von Lösungsmitteln langsam zum Trocknen gebracht, wurde das Acetat eine hornartige harte, dunkelbraune Masse, die sehr schwer zu pulverisieren war, aber, einmal fein gerieben, hell oder ganz weiß wurde. Auch die Chloroformlösung der an sich farblosen Substanz wurde dunkelbraun. In ganz trockenem Zustand zeigte das fein pulverisierte Produkt eine starke Elektrisierbarkeit, was auch bei dem Sinistrin (37) und dem Secalin (2) gefunden worden ist.

Die Reinigung des Acetylphleins erfolgte durch Fällung aus Chloroformlösung mit Äthanol (Vers. 19), welche nach wenigen Wiederholungen das reine Produkt ergab. Eine Bestimmung des Acetylgehaltes erwies, daß das Produkt vollständig acetyliert war (Vers. 20). Das Triacetat, im Gegensatz zum unsubstituierten Kohlenhydrat, war rechtsdrehend; es zeigte eine spezifische Drehung von $+20{,}7^\circ$ (Chloroform, C = 1, 1 dm) (Vers. 21), also nahezu 71° positiver als das Phlein selbst. Es schmolz ziemlich scharf um 233° (Vers. 22).

Zurückgewinnung des Phleins

Um das reine Kohlenhydrat aus dem Triacetat zurückzugewinnen, wurde letzteres unter möglichst milden Bedingungen mit Alkali verseift. Die bekannte Methode von Zemplén (54) war auch mit verschiedenen

Abänderungen wegen der Unlöslichkeit des Acetats nicht brauchbar (Vers. 23). Dasselbe galt für die Entacetylierung mit alkoholischer Lauge nach Pringsheim und Aronowsky (40) (Vers. 24). Schließlich aber führte ein denkbar einfaches Verfahren, Schütteln der Substanz mit verdünnter wässriger Kalilauge während längerer Zeit bei Zimmertemperatur, reibungslos und mit guter Ausbeute zum Ziel (Vers. 26).

Konstanten des Phleins

Die Eigenschaften des direkt gewonnenen Phleins wurden verglichen mit denen der über die Acetylverbindung gereinigten Substanz. In allen Fällen stimmten die Ergebnisse für die beiden miteinander sehr gut überein (Vers. 27—33) und brachten den schlüssigen Beweis für die Reinheit und Einheitlichkeit des Ausgangsmaterials. Nach den vergleichenden Untersuchungen wurden die wichtigeren Konstanten des Phleins aufgestellt. Die Teilchengrößebestimmung ergab 2531 bzw. 2584 Einheiten, welche auf die Anwesenheit von 15 bis 16 Fructoseresten im Molekül hinwiesen. Die spezifische Drehung im Wasser war —50,0° (c = 1, 1 dm). Die Halbumsatzzeit (33) wurde zu 233 und 236, also im Mittel 235 Minuten bestimmt. Der Reduktionswert, 0,184 bis 0,242%, war ohne Bedeutung. Der Schmelzpunkt lag um 220°.

Der Baustein des Phleins

Durch die Verfolgung der Drehungsänderungen während der Säurehydrolyse eines Polysaccharids kann man zu wichtigen Anhaltspunkten über die Art der im Molekül enthaltenen Monosereste gelangen, vorausgesetzt, daß die Spaltung wirklich bis zum Schluß läuft, und daß keine störenden Nebenprodukte entstanden sind. Diese Voraussetzungen werden weitgehend erfüllt dadurch, daß man die Reaktion unter äußerst milden Bedingungen ausführt. Die Vorbedingung wurde auch bei der Hydrolyse des Phleins innegehalten. In diesem Falle (Vers. 30) wurde nach 48 Stunden die Enddrehung —96,2° erhalten, während der theoretische Wert, wenn nur Fructose als Baustein aufgefaßt werden würde, zu —102,6° berechnet wurde. Da der kleine Unterschied zwischen den beiden Werten wahrscheinlich auf Sekundärreaktionen oder Verunreinigungen zurückzuführen war, wie es bei mehreren Polyfructosanen gefunden wurde (41, 32, 31, 49), war anzunehmen, daß das Phlein nur Fructose im Molekül enthielt.

Ferner lieferte die Aldosewertbestimmung, die gleichzeitig ausgeführt wurde (Vers. 31), den Beweis, daß das Phlein sehr wahrscheinlich keine Aldose enthielt. War doch nach 8 Stunden Hydrolyse keine Aldose nachweisbar, und erst nach 24 Stunden, wenn selbst eine reine Fructoselösung einen bedeutenden „Aldosegehalt" aufwies, wurde ein Gehalt an Aldose von nur 0,66% bestimmt. Sehr wahrscheinlich waren die Zahlen kein Beweis für die Anwesenheit von Glucose in den Lösungen; eher waren sie die Ergebnisse von Umlagerungen der Spaltprodukte, welche bei ihrer langen Berührung mit Säuren zustande gekommen sein mußten.

Es war anzunehmen, daß das Phlein keine Aldose im Molekül enthielt und nur aus Fructose aufgebaut war.

C. KONSTITUTIONSERMITTLUNG

Methylphlein

Zum Zweck der Konstitutionsermittlung wurde das Triacetylphlein in die Methylverbindung verwandelt. Die Methylierung erfolgte glatt nach dem bekannten Verfahren von Haworth und Streight (12). Unter Berücksichtigung der von Heß und Neumann (29) bei der Methylierung von Cellulose gemachten Beobachtung, daß der Luftsauerstoff einen zersetzenden Einfluß auf die Produkte hatte, wurde die Reaktion in einem Stickstoffstrome ausgeführt (Vers. 34). Als Vorsichtsmaßnahme gegen den möglichen Verlust einer großen Menge Substanz, wenn einmal der Versuch mißlingen sollte, wurde das Acetat in mehreren kleinen Ansätzen verarbeitet. Nach der ersten Methylierung wurde ein Methoxylgehalt der Produkte von 38 bis 40% festgestellt. Es wurde wiederholt nachmethyliert. Nach zweimaliger Wiederholung wurde in einem Ansatz der Methoxylgehalt von 45,54%, in einem anderen 45,10% und in zwei anderen zu rund 45% bestimmt. Um festzustellen, ob der theoretische Wert von 45,6% überschritten werden konnte, wurden die 4 Fraktionen in 2 vereinten Ansätzen noch einmal methyliert. Keine Erhöhung in dem Methoxylgehalt wurde erzielt. Die Produkte zeigten einen Gehalt an Methoxyl von 45,06 bzw. 45,35%. Nach zweimaliger Umfällung mit Äther aus Chloroform (Vers. 35) stiegen die Methoxylgehalte zu 45,18 bzw. 45,42% an. Es war also nicht möglich, einen Methoxylgehalt von mehr als 45,6% zu bewerkstelligen.

Das gereinigte Trimethylphlein war ein weißes Pulver, das langsam schwach braun wurde. Es besaß weder Geschmack noch Geruch, war nicht hygroskopisch und schmolz unzersetzt bei 172° (Vers. 37). Es war in Chloroform sehr leicht löslich, in Aceton, Benzol, Petroläther, Tetrachlorkohlenstoff, Äthanol, Methanol und in warmem Äther wenig löslich, in Wasser nahezu unlöslich, stellte also die löslichste Verbindung des Phleins dar. Seine spezifische Drehung in Chloroform betrug —57,7° (c = 1, 1 dm) (Vers. 36).

Eine Molekulargewichtsbestimmung nach Beckmann führte zum Ergebnis, daß 15 Fructosereste im Molekül des Phlein enthalten waren, und unterstützte lediglich den Befund bei der gleichen Bestimmung im Falle der unsubstituierten Substanz (Vers. 28).

Säurespaltung

Zur Spaltung des Methylphleins wurde die von Haworth und Learner (14) am Methylinulin ausgearbeitete Methode angewandt. Es wurde zunächst eine Probespaltung von 7 g Substanz angesetzt, um einen Überblick über die Anwendbarkeit der Methode und die Art der Spaltprodukte zu gewinnen (Vers. 39). Nach 21stündiger Behandlung mit alkoholischer Oxalsäure war die Spaltung beendet, und das Produkt wurde mit verdünnter Salzsäure nachgespalten, um eventuell gebildete Fructoside zu beseitigen. Eine Fraktionierung der Produkte durch Hochvakuumdestillation (Vers. 40) deutete auf die überraschende Tatsache hin, daß sie sehr wahrscheinlich nur aus Trimethylfructose bestanden. Darauf wurde eine größere Menge des Trimethylphleins in gleicher Weise der Spaltung unterworfen (Vers. 42). Aus 30 g Substanz wurden 28,0 g Spaltprodukte,

die noch wenig lösungsmittelhaltig waren, erhalten. Um den Verlust der relativ leicht flüchtigen Tetramethylfructose zu vermeiden, wurde das Verjagen der Lösungsmittel bei möglichst tiefer Temperatur vorgenommen. Als weniger und weniger Lösungsmittel zurückblieben, fingen mehr und mehr feine, nadelige Kristalle an, sich auszuscheiden. Zum Schluß erstarrten die Spaltprodukte zu einem Kuchen von Kristallnadeln, die sich zu schönen sternförmigen Gebilden vereinigt hatten.

Bei der Hochvakuumdestillation der Spaltprodukte (Vers. 43) wurde sorgfältig quantitativ gearbeitet. Durch allmähliche Erhöhung der Badtemperatur und angemessene Kühlung der Vorlage wurde dafür gesorgt, daß etwaige vorhandene Tetramethylfructose in der Vorlage zurückgehalten werden würde. Mit Berücksichtigung der Resultate der Probespaltung wurde das Destillat in 3 Teile fraktioniert, wovon die erste und die letzte auf möglichst kleine Volumina beschränkt wurden. Dadurch wurde erreicht, daß die Erkennung kleinster Mengen von Tetra- oder Dimethylfructose, welche durch Beimengung überschüssiger Trimethylfructose erschwert werden könnte, eine leichte wurde. Die Fraktion II umfaßte infolgedessen 22,210 g, während die Fraktionen I und III 1,170 bzw. 2, 676 g enthielten. Im Destilliergefäß blieben 2,5 g einer dunkelbraunen Substanz zurück. Zusammenzählung der 4 Mengen ergab 28,556 g, welche Zahl mit der Ausgangsmenge 28,0 g annähernd übereinstimmte und bewies, daß sehr wahrscheinlich keine Substanz bei der Destillation verloren gegangen war.

Während bei der Probespaltung ganz farblose Destillate erhalten wurden, waren die Fraktionen bei der Hauptspaltung leider durch Spritzen im Destillierkolben beträchtlich braun gefärbt. Die Fraktionierung war sonst sehr gut gelungen, was man aus den Brechungsexponenten der Produkte ersehen konnte. Die erste Fraktion hatte einen Brechungsexponenten von 1,4633, die zweite 1,4645, und die dritte 1,4680. Danach enthielt die zweite Fraktion praktisch reine Trimethylfructose (nD 1,4650), die dritte Fraktion war wahrscheinlich ein Gemisch von Di- und vorwiegend Trimethylfructose, während die erste Fraktion möglicherweise außer Trimethylfructose eine kleine Menge schwächer lichtbrechender Substanz, entweder Tetramethylfructose oder Lösungsmittel, enthalten konnte.

Der dunkelbraune Kolbenrückstand wurde mit Chloroform herausgelöst und nach Abdampfen des Lösungsmittels für sich untersucht (Vers. 47). Er war ein dickflüssiger Syrup, hatte einen Brechungsexponenten von 1,5370 (Dimethylfructose nD 1,4860) und einen Methoxylgehalt von 29,53% (Dimethylfructose OCH_3 = 29,8%), bestand also aus fast reiner Dimethylfructose. Seine Menge betrug 0,31 g.

Untersuchung der Destillate

Die Destillate, die anfangs dünnflüssig waren, wurden nach kurzem Stehen dicker, und bald erschienen kleine, nadelförmige Kristalle in großer Zahl. Über Nacht im Eisschrank gelassen, erstarrten alle Fraktionen zu hellbraunen Kristallmassen. Die Kristalle wurden getrennt abgenutscht, mit wenig kaltem Äther gewaschen und vereinigt, zumal eine Schmelzpunktbestimmung gezeigt hatte, daß die Kristalle in allen 3 Fraktionen identisch waren. Die Mutterlauge der dritten Fraktion wurde für sich untersucht, während die der ersten und zweiten Fraktion ver-

einigt wurden, ausgehend von dem Gedanken, daß etwaige vorhandene Tetramethyfructose auch in der zweiten Fraktion aufgefangen sein konnte, ohne von sich durch eine wahrnehmbare Änderung in den Brechungsexponenten Kunde zu geben. Außerdem hat die Tetramethylfructose in der Konstitutionsermittlung eine positivere Bedeutung als die Dimethylfructose, welche leicht durch unvollständige Methylierung entstehen kann.

Die nähere Untersuchung der Kristalle (Vers. 44) führte zu der Überzeugung, daß sie mit der zuerst von Hibbert und Mitarbeiter (30) beschriebenen, später auch von Haworth (16, 21) untersuchten 1, 3, 4-Trimethylfructose identisch waren. Aus Äther umkristallisiert schmolzen die farblosen Kristalle um 75° und hatten nach Bendigung der Mutarotation eine spezifische Drehung (c = 1, 1 dm) von —47,6° in Wasser, —24,1° in absolutem Methanol und +19,0° in Chloroform. Die Kristalle hatten einen scharfen, bitteren Geschmack. Der Brechungsexponent einer zum Schmelzen gebrachten Probe betrug 1,4650, und eine Methoxylbestimmung ergab 42,10% (Trimethylfructose 41,9%). Es stand daher außer Zweifel, daß die Kristalle 1, 3, 4-Trimethylfructose waren.

Die vereinigten Mutterlaugen der ersten zwei Fraktionen wurden durch Auflösen in wenig Äther und Animpfen mit Kristallen von 1, 3, 4-Trimethylfructose wiederholt zum Kristallisieren gebracht (Vers. 45), bis dies nicht mehr gelang. Der von Lösungsmitteln befreite Rückstand wog 0,35 g und hatte einen Brechungsexponenten von 1,4667 (Trimethylfructose nD 1,4650) und einen Methoxylgehalt von 42,21% (Trimethyfructose 41,9%). Die Mutterlaugen enthielten also praktisch reine Trimethylfructose.

Dadurch wurde festgestellt, daß höchstwahrscheinlich keine Tetramethylfructose in dem Destillat vorhanden war.

Die Mutterlauge der letzten Fraktion wurde in analoger Weise untersucht. Der nicht mehr kristalliesierende Rest betrug 0,3 g und hatte einen Methoxylgehalt von 39,41%. Es war daher ein Gemisch von Di- und Trimethylfructose, was auch durch den Brechungsexponenten von 1,4715 (Dimethylfructose nD 1,4860, Trimethylfructose nD 1,4650) bestätigt wurde. Nach dem Methoxylgehalt berechnet enthielt er 39% oder 0,117 g Dimethylfructose.

Aus der Summe dieser Menge mit 0,31 g im Kolbenrückstand (Vers. 47) ergab sich der gesamte Gehalt an Dimethylfructose der Spaltprodukte zu 0,427 g oder 1,62%.

Es war nun nicht ausgeschlossen, daß diese kleine Menge Dimethylfructose von unvollständiger Methylierung herrührte. Die zur Spaltung angesetzte Substanz hatte einen Methoxylgehalt von 45,27% und nicht 45,6%, den theoretischen Gehalt für das vollständig methylierte Polyfructosan. Angenommen, daß die partiell methylierten Anteile als Dimethylphlein vorlagen, berechnete sich der Gehalt an diesem zu 1,9%. Diese Zahl liegt so auffallend nahe bei 1,62%, dem Gehalt an Dimethylfructose der Spaltprodukte, daß man sich doch die Annahme erlauben kann, daß die bei der Destillation gefundene Dimethylfructose von unvollständiger Methylierung herstammte.

Man kam also zu der Schlußfolgerung, daß aus der Säurespaltung des Trimethylpleins nur die 1, 3, 4-Trimethylfructose entstanden war.

Die Konstitution des Phleins

a) Die Struktur des Moleküls

Aus den beschriebenen Versuchen sind als Grundlage für die Aufstellung der Konstitution des Phleins folgende als die wichtigsten Daten anzusehen:

1. Das Phlein reduziert nicht.
2. Es ist nur aus Fructose aufgebaut.
3. Es paßt in seinen gesamten Eigenschaften in die Gruppe der Polyfructosane hinein.
4. Ein Methylprodukt mit einem höheren Methoxylgehalt als 45,6% kann nicht erzielt worden.
5. Trimethylfructose bildet das alleinige Produkt der Spaltung seiner Methylverbindung.
6. Dieses Produkt ist mit der 1, 3, 4-Trimethylfructose identisch.

Angenommen, daß kein gröber Experimentalfehler, wie z. B. das Übersehen der Tetramethylfructose in den Spaltprodukten, bei den Untersuchungen eingetreten ist, liefert lediglich der Befund, daß die Spaltung der Methylverbindung Trimethylfructose als einziges Produkt ergibt, einen genügend deutlichen Beweis, daß die Glieder des Phleinmoleküls einen abgeschlossenen Ring bilden müssen, weil sonst, wenn das Molekül als eine offfene Kette vorliegen sollte, wie Haworth für die Polysaccharide annimmt, Tetramethylfructose an den Enden der Kette vorhanden sein müßte. Dieser Schluß wird außerdem durch die Tatsache unterstützt, daß das Phlein ein natürlicher Vertreter der Gruppe der Polyfructosane ist, für welche durch die Arbeiten von Schlubach und Mitarbeitern (34, 49, 46, 47, 48, 36, 10, 39, 35) die Ringstruktur des Moleküls sehr wahrscheinlich gemacht worden ist. Die Ringtheorie fordert unter anderem, daß das Polysaccharid nicht reduzieren soll, und daß sein Methylprodukt den Methoxylgehalt von 45,6% als den theoretischen besitzt. Diese Voraussetzungen sind auch im Falle des Phleins vollkommen erfüllt.

Mit der Annahme der Ringstruktur ergibt sich die Schlußfolgerung, daß das Phleinmolekül keine Seitenkette trägt, weil sonst nach der Ringtheorie äquivalente Mengen an Di- und Tetramethylfructose in dem Hydrolysat des Methylphleins vorhanden sein müßten.

Man darf daher mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß das Phleinmolekül eine Ringstruktur besitzt, und zwar ohne jegliche Seitenketten.

b. Das Bindungsprinzip im Molekül

Zum Einblick in das Bindungsprinzip der einzelnen Glieder des Phleinmoleküls dienen als Anhaltspunkte die Tatsachen, daß das betreffende Polyfructosan keine reduzierende Wirkung besitzt, und daß das einzige Produkt der Spaltung seiner Methylverbindung die 1, 3, 4-Trimethylfructose ist. Aus dem ersten geht hervor, daß die reduzierende Gruppe des Fructoseresten abgedeckt sein muß, aus dem zweiten, daß eine Verknüpfung an dem sechsten C-Atom stattfindet. Daraus ergibt sich, daß das Phleinmolekül sich aus einer Anzahl von Fructoseresten aufbaut, die miteinander an den Stellen 2 und 6 durch Sauerstoffbrücken

verbunden sind. Eine Aufstellung des Formelbildes nach diesen Überlegungen stellt eine annehmbare Wiedergabe der gefundenen Verhältnisse dar (Abb. 1).

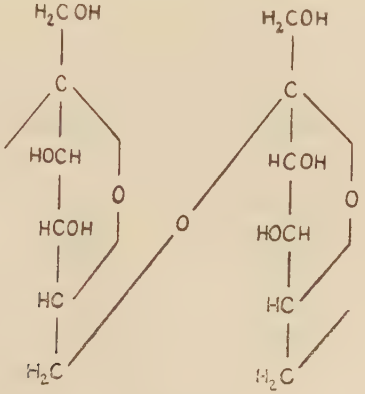


Abb. 1

c. Die Größe des Moleküls

Als Schlüssel zur Ermittlung der Molekülgröße des Phleins stehen nur die Ergebnisse der kryoskopischen Molekulargewichtsbestimmungen zur Verfügung. Zwar wurden die Messungen an zwei auf verschiedenen Wegen gereinigten Phleinfraktionen sowie an dem Methylprodukt ausgeführt, und ihre Ergebnisse stimmten in allen Fällen gut miteinander überein, aber, wie vielfach von verschiedenen Bearbeitern (5, 27, 28, 3, 26) beobachtet wurde, ist die Methode, besonders wenn sie bei hochpolymeren Kohlenhydraten angewandt wird, nicht immer zuverlässig, und große Vorsicht ist bei der Auswertung der Ergebnisse geboten. Neben den Tatsachen, daß bei der Größe der Polysaccharidmoleküle sehr hohe Genauigkeit gefordert ist, und daß die kolloidalen Eigenschaften der Lösungen Schwierigkeiten und Irrtümer mit sich bringen würden, muß man noch mit der Möglichkeit rechnen, daß die Anwendung der Methode auf Hochpolymere mit unbekannten eigentümlichen Fehlerquellen verknüpft sein kann. Da aber im Falle des Phleins kein zuverlässigerer Befund zur Verfügung steht, muß man sich mit den gewonnenen Ergebnissen begnügen.

Die Bestimmungen an dem unsubstituierten sowie dem methylierten Phlein ergaben übereinstimmend als Ergebnis 15 bis 16 Fructosereste als Bausteine des Phleinmoleküls. Dies steht in vollem Einklang mit dem von Ekstrand und Mauzelius (9) angegebenen Molekulargewicht von 2450, welches auf 15 Fructosereste deutet. Mit dem Vorbehalt, daß diese Größe der Tatsache entspricht, kann ein vorläufiges Formelbild des Phleins aufgestellt werden (Abb. 2).

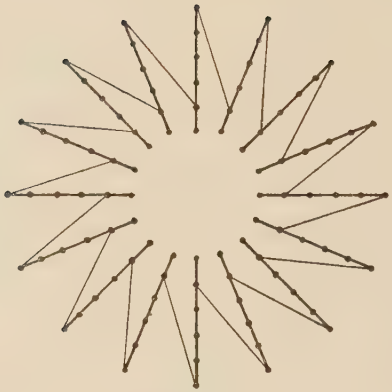


Abb. 2

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Zur Unterstützung der Ringtheorie

In dem Phlein ist ein Polysaccharid gefunden, dessen Eigenschaften es ohne weiteres in die Gruppe der Polyfructosane einordnen lassen. Daß sein Molekül Ringstruktur besitzt, steht nach den Versuchsergebnissen außer Zweifel. Obwohl keine Di- und Tetramethylfructose in seiner Verbindung vorhanden ist, gelten doch in seinem Falle die folgenden Vorstellungen des Begründers der Ringtheorie:

1. Die Polyfructosane reduzieren nicht. Das Phlein hat keine reduzierende Wirkung auf Fehlingsche Lösung.
2. Der theoretische Methoxylgehalt des permethylierten Fructosans beträgt 45,6%. Dieser Wert konnte beim Phlein trotz wiederholter Versuche nicht überschritten werden.

Die dritte Voraussetzung, daß Di- und Tetramethylfructose stets in äquivalenter Menge auftreten, ist in diesem Falle insofern erfüllt, da man die Menge von Di- und Tetramethylfructose gleich Null setzen kann.

Das Phlein stellt daher eine weitere Stütze für die Theorie der Ringstruktur der Polyfructosane dar.

Eine der größten Schwierigkeiten in den ausgeführten Versuchen wurde bei der Acetylierung des Phleins getroffen. Besonders kräftige Bedingungen, wie sie bisher bei keinem Fructosan angewandt worden waren, mußten gebraucht werden, um die Acetylgruppen in das Phleinmolekül einzuführen. Es scheint, als ob dieses Polysaccharid eine ungewöhnliche Widerstandsfähigkeit gegen chemische Einwirkungen besitzt. Denselben Eindruck erhielt man bei den Entacetylierungsversuchen. Aber eine kurze Überlegung genügt, davon zu überzeugen, daß diese Widerstandsfähigkeit nur vorgetäuscht ist. Die Trocknungsversuche zeigten deutlich, daß das Phlein ziemlich empfindlich gegen Temperaturerhöhung war, sogar empfindlicher als manche anderen Fructosane. Während bei ähnlichen Versuchen mit Sinistrin (37) eine durch Ansteigen der spezifischen Drehung erkenntliche Zersetzung der Substanz erst nach 6 Stunden bei einer Temperatur von 60°, und nach 4 Stunden bei 80° eintrat, und mit Asparagosin (6) der Abbau erst nach sechsstündiger Trocknung bei 80° nachgewiesen wurde, begann der Anstieg der spezifischen Drehung des Phleins schon, wenn die Substanz länger als 2 Stunden bei 60° oder 80° gehalten wurde. Auch gegen die Einwirkung von Säuren ist das Phlein sehr wahrscheinlich nicht widerstandsfähiger als andere Polyfructosane; eher ist es weniger widerstandsfähig, wie durch die Halbumsatzzeit ausgedrückt wird. Diese hat für Phlein den Wert 235 Minuten und ist 19 Minuten größer als beim Triticin (39), 13 Minuten größer als beim Graminin (34), und 10 Minuten größer als beim Secalin (2), aber kleiner als diejenigen von Irisin (36), Sinistrin (37), Asparagosin (6) und Inulin (49), welche zwischen 242 und 360 Minuten liegen. Die Widerstandsfähigkeit des Phleins ist daher nur scheinbar.

Der Grund hierfür ist sehr wahrscheinlich in der Schwerlöslichkeit der Substanz zu suchen. Diese ist die wahre Besonderheit des Phleins. Auch bei der Acetylierung ist es bemerkbar, wie verzögernd die Schwerlöslichkeit der Substanz wirkte. Wenn die Substanz richtig aufgelöst wurde, gelang die Acetylierung ganz glatt. Die Versuche, nach Zemplén und nach Pringsheim und Aronowsky zu entacetylieren, waren ohne Erfolg, weil die Anwesenheit des Methanols die Löslichkeit des Kohlenhydrats sehr stark herabsetzte. Ohne Alkoholzusatz trat die Reaktion sogar bei Zimmertemperatur ein. Außerdem wurde an einer Probe Phlein beobachtet, welche aus wässriger Lösung mit Alkohol umgefällt und dann 7 Wochen in der Mutterlauge stehen gelassen wurde, daß kein Abbau nachgewiesen werden konnte, während eine andere Probe, die in wässriger Lösung stehen gelassen war, schon nach 3 Tagen eine bedeutende Zersetzung zeigte.

Die Schwerlöslichkeit des Phleins ist in wenig geändertem Maße auf seine Substitutionsprodukte übertragen. Das Acetat ist nur in Chloroform leicht löslich. In Aceton und Methanol, zwei viel gebrauchten Lösungsmitteln für die Fructosanacetate, ist es nicht löslich. Das Methylprodukt ist die löslichste Verbindung des Phleins, aber seine Löslichkeit kann keineswegs mit derjenigen anderer methylierter Fructosane verglichen

werden. Während die meisten Trimethylfructosane in Benzol, Aceton, Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform löslich sind, löst sich das Methylphlein nur im letztgenannten auf.

Wenn man die Schwerlöslichkeit des Phleins in Betracht zieht, könnte man erwarten, ein hochmolekulares Produkt in der Hand zu haben. Phlein, mit seinen 15—16 Fructoseresten, hat aber nur ein mittelgroßes Molekül, welches der Löslichkeit nicht entspricht. Im Übrigen ist bei den Polyfructosanen keine zu verallgemeinernde Beziehung zwischen Löslichkeit und Molekülgröße zu erwarten. Das Sinistrin, zum Beispiel, hat ein ungefähr gleich großes Teilchen wie das Phlein, ist aber in Wasser leicht löslich.

Wie bei anderen Fructosanen (6, 34, 49, 36, 37, 39) wurde auch beim Phlein die Beobachtung gemacht, daß bei der Säurehydrolyse die Berechnungen des Spaltungsgrades und der Spaltungsgeschwindigkeit nach dem Reduktionswert und nach der spezifischen Drehung nicht zu übereinstimmenden Ergebnissen führen. Die nach der letzteren Eigenschaft berechnete Spaltung blieb deutlich hinter der anderen zurück. So war eine fünfzigprozentige Spaltung statt nach 235 Minuten erst nach 500 Minuten erreicht. Die Ursache dieser Erscheinung, welche für die bisher untersuchten Polyfructosane scheinbar geltend ist, wird wahrscheinlich in der Bildung von unvollständig gespaltenen Produkten, die nicht so stark negativ wie Fructose drehen, zu suchen sein, wie Schlubach, Knoop und Liu (43, 44) beim Irisin festgestellt haben.

Phlein, Irisin und Inulin

Ekstrand (7, 8, 9) hat die Beobachtung gemacht, daß das Phlein in seiner Löslichkeit und spezifischen Drehung dem Irisin sehr ähnelte. Auch am Anfang dieser Arbeit fiel dasselbe auf. Der Unterschied zwischen der spezifischen Drehung von Irisin, —53,3°, und von Phlein, —50,0°, ist nicht bedeutend. Die Löslichkeiten des unsubstituierten Kohlenhydrats und des Acetats in verschiedenen Lösungsmitteln sind außerordentlich ähnlich. Auch die Halbumsatzzeiten, 235 Minuten für Phlein und 242 für Irisin, unterscheiden sich wenig. Ferner liegen die Werte für die spezifische Drehung des Methylprodukts ziemlich nahe beieinander. Fast die ganze Zeit herrschte daher der Gedanke, daß das Phlein mit dem Irisin identisch sein könnte. Erst nach der Spaltung des Methylprodukts wurde die grundsätzliche Verschiedenheit zwischen den beiden sichergestellt.

Mit der Auffindung der Trimethylfructose als alleinigem Bestandteil des Trimethylphleins ist die Analogie zu Inulin, dessen Trimethylverbindung auch nur Trimethylfructose ergibt (10), festgestellt. Der Unterschied liegt nur in der Art der Verknüpfung zwischen den einzelnen Gliedern des Moleküls. Während diese beim Inulin bekanntlich in den Stellen 1 und 2 stattfindet, geschieht sie beim Phlein an den zweiten und sechsten C-Atomen. Beide Moleküle tragen keine Seitenkette, aber das Inulinmolekül ist nahezu doppelt so groß wie das Phleinmolekül. Es ist bemerkenswert, daß trotz der Ähnlichkeit in der Konstitution die beiden Kohlenhydrate wenig Ähnlichkeit in ihrem Verhalten zeigen. In seinen Eigenschaften ähnelt das Phlein dem grundsätzlich verschieden gebauten Irisin mehr als dem Inulin, wie aus der folgenden Aufstellung ersichtlich ist.

Tabelle 1

Phlein, Irisin, Inulin

	Phlein	*Irisin* (36, 13)	*Inulin* (49, 10)
Unsubst. Kohlenhydr.			
α D (Wasser)	—50,0°	—53,3°	—42,2°
Lösl. k. Wasser	s. w.	s. w.	unlösl.
Redukt.-Wert	0	0	0
Schm.-Punkt	220°	160—210°	—
Fructose i. Mol.	15—16	20	30
H. U. Z.	235	242	360
Acetat			
α D (Chlorof.)	+20,7°	—22°	—34,0°
Schm.-Punkt	233°	217°	—
Lösl. Chlorof.	l. l.	l. l.	l. l.
Benzol	unlösl.	unlösl.	l. l.
Aceton	unlösl.	unlösl.	l. l.
Eisessig, h.	w. l.	w. l.	—
Methylprodukt			
α D (Chlorof.)	—57,7°	—63,2°	—54°
Schm.-Punkt	172°	187—188,5°	—
Konstit. Trim.-fruct.	1, 3, 4-	keine Tri.	3, 4, 6-
Di : Tri : Tetra	0 : 1 : 0	1 : 0 : 1	0 : 1 : 0

Phlein, Lävan, Poa-in, Secalin

Die Entdeckung der kristallisierten Trimethylfructose in den Spaltprodukten des Methylphleins lenkt die Aufmerksamkeit auf einige andere Polysaccharide, die auch diese Verbindung liefern. Bis jetzt sind außer Phlein 3 solche Fructosane gefunden worden, nämlich das Lävan (30), das Secalin (2, 48) und ein Polysaccharid aus Poa trivialis (23), welches in dieser Arbeit der Kürze halber als Poa-in bezeichnet werden wird. Die Konstitution des Lävans wurde zuerst von Hibbert, Tipson und Brauns im Jahre 1930 untersucht. Sie gewannen das Polysaccharid aus Rohrzuckerlösungen durch die Einwirkung von Bac. mesenterici oder deren Enzyme und stellten seine Zugehörigkeit zur Gruppe der Polyfructosane fest. Bei der Hydrolyse des methylierten Lävans erhielten sie durch Hochvakuumdestillation zum ersten Male eine kristallisierte Trimethylfructose, welche sie durch Oxydation und Umwandlung in die zweibasische Dimethyllactolsäure als die 1, 3, 4-Form chrakterisierten. Merkwürdigerweise besitzt das Lävan sowie seine substituierten Verbindungen Eigenschaften, die denen des Phleins stark ähneln. Besonders in den spezifischen Drehungen der Verbindungen sind nur kleine, unbedeutende Abweichungen vorhanden. Nur die Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln ist ein wenig unterschiedlich. Der Hauptunterschied liegt aber in der von Haworth und Mitarbeitern (21) mitgeteilten Feststellung, daß das Lävan außer der Trimethylfructose auch Di- und Tetramithylfructose, und zwar

jede in der Höhe von etwa 10%, in den Spaltprodukten der Methylverbindung enthält. Vorausgesetzt, daß das von Haworth zur Untersuchung herangezogene Lävan wirklich identisch mit demjenigen von Hibbert ist, steht somit die Verschiedenheit vom Phlein außer Zweifel.

In dem Wiesengras Poa trivialis isolierten Challinor, Haworth und Hirst (23) ein Polysaccharid, welches seinerseits dem Lävan sehr ähnelte. Aus der Methylverbindung dieses Polyfructosans erhielten die Bearbeiter durch Säurespaltung und Hochvakuumdestillation auch die 1, 3, 4-Trimethylfructose, womit die Verwandtschaft zu Lävan festgestellt wurde. Leider liegen keine näheren Untersuchungen der Spaltprodukte vor, denn die Forscher haben sich nur mit der Entdeckung der kristallisierten Trimethylfructose begnügt, und die Frage, wie nahe dieses Polysaccharid mit dem Lävan verwandt ist, muß unbeantwortet bleiben.

Das Secalin ist ein wasserlösliches Fructosan, welches aus dem Roggenhalm kurz nach der Blüte gewonnen wird und vor kurzer Zeit von Schlubach und Bandmann (48) gründlich untersucht worden ist. Unter verschiedenen Eigentümlichkeiten fanden sie die Größe des Moleküls, welches nur 4 Fructosereste umfaßte und als das kleinste der bisher beschriebenen Fructosane galt, und das Vorhandensein der 1, 3, 4-Trimethylfructose in der Methylverbindung. Durch genaue Trennung konnte gezeigt werden, daß die Trimethylfructose 50% der ganzen Spaltprodukte ausmachte, während der Rest aus gleicher Menge von Di- und Tetramethylfructose bestand. Nach dem Prozentgehalt an Trimethylfructose ist das Secalin dem Phlein weniger nahe verwandt als das Lävan, und dasselbe zeigt auch ein Vergleich der Eigenschaften der betreffenden Substanzen.

Tabelle 2 dient dazu, die Beziehungen zwischen Phlein, Lävan, Poa-in und Secalin übersichtlich darzustellen.

Tabelle 2

Phlein, Lävan, Secalin und Poa-in

	Phlein	*Lävan* (30,21)	*Poa-in* (23)	*Secalin* (48,2)
Unsubst. Kohlenhydr.				
α D (Wasser)	—50,0°	—45,3°; —47°	—41°	—37,5°
Lösl. k. Wasser	s. w.	l. l.	l.	l. l.
Fehling red.	nicht	nicht	nicht	nicht
H. U. Z.	235	—	—	225
Fruct. i. Mol.	15—16	10 ?	—	4
Acetat				
α D (Chlorof.)	+20,7°	+21,0°	+23°	+3,0°
Schm.-Punkt	233°	196°	100—210°	—
Lösl. Chlorof.	l. l.	l.	l. l.	l. l.
Aceton	unl.	w. heiß	w. l.	l. l.
Äthanol	unl.	w. heiß	w. heiß	—

Fortsetzung von Tabelle 2

Phlein, Lävan, Secalin und Poa-in

	Phlein	*Lävan* (30,21)	*Poa-in* (23)	*Secalin* (48,2)
Methylprodukt				
α D (Chlorof.)	—57,7°	—60°	—60°	—45,0°
Schm.-Punkt	172°	145—147°	—	—
Lösl. Chlorof.	l. l.	l. l.	l. l.	l. l.
Aceton	w. heiß	l. l.	l. l.	l. l.
Benzol	w. heiß	l. l.	—	l. l.
Äthanol	w. heiß	l. l.	w. heiß	—
Fehling red.	nicht	nicht	nicht	—
Trimethylfruct.				
α D (Wasser)	—47,6°	—51,85°	—49°	—
α D (Chlorof.)	+19,0°	+16,5°	—	+18,7°
n D	1,4650	1,4661	—	1,4652
Schm.-Punkt	75°	73°	75°	75°
Di : Tri : Tetra	0:1:0	1:8:1 ?	—	1:2:1

Das rechtsdrehende Acetat

Besonders auffallend bei diesen vier Stoffen, dem Phlein, Lävan, Poa-in und Secalin, ist das Acetat. Während dieses bei allen anderen bisher bekannten Polyfructosanen negative und ungefähr gleich große spezifische Drehung wie das unsubstituierte Kohlenhydrat besitzt, sind die Acetate der erwähnten Polysaccharide alle rechtsdrehend. Diese Eigentümlichkeit beim Lävan hat Veibel (52), der glaubt, sie sei nur bei den von Bakterien erzeugten Polylävanen zu beobachten, zu der Behauptung geführt, der wichtigste Unterschied zwischen den natürlichen, in Pflanzen vorkommenden und den durch Bakterienwirkung gebildeten „Polylävanen" liege darin, daß die Triacetate der ersteren links- und die der letzteren rechts-drehend sind. Die Haltlosigkeit dieser Annahme ist nunmehr klar ersichtlich.

Eine interessante Frage ist nun, ob ein rechtsdrehendes Acetat nur bei solchen Fructosanen zu finden ist, deren Methylverbindung bei der Spaltung die kristallisierte 1, 3, 4-Trimethylfructose ergibt. Für die bekannten Fälle muß eine bejahende Antwort gegeben werden. Hat doch außer dem Phlein, dem Lävan, dem Poa-in und dem Secalin kein anderes Polyfructosan eine positiv drehende Acetylverbindung. Andererseits ist kein Polyfructosan mit linksdrehendem Acetylprodukt bekannt, dessen Trimethylderivat zur 1, 3, 4-Trimethylfructose führt. Insoweit als es das zugängliche Material beweist, scheint das rechtsdrehende Acetat eine Eigentümlichkeit der „Phlein-Gruppe" zu sein, und es wäre sehr interessant, an Hand von mehr Beispielen festzustellen, ob man durch die Drehrichtung des Acetats eines Polyfructosans das Vorkommen oder Nichtvorkommen der 1, 3, 4-Trimethylfrutose im Voraus bestimmen kann.

Die Phlein-Gruppe

Mit all seinen Eigenschaften stellt das Phlein also ein neues Mitglied der Polyfructosangruppe dar. Es ist insofern ein Analogon zum Inulin, als sein Methylderivat bei der Hydrolyse nur Trimethylfructose liefert, aber es unterscheidet sich von ihm, wie früher erwähnt, in der Bindungsart des Moleküls. Genau so wie man von der „Inulin-Gruppe" spricht, kann man auch von der „Phlein-Gruppe" sprechen. Während die erste Gruppe solche Fructosane wie Inluin, Asparagosin, Sinistrin und Graminin umfaßt, welche die 3, 4, 6-Trimethylfructose geben, sind in der zweiten das Phlein, das Lävan, das Poa-in und das Secalin unterzubringen. Wie das Inulin steht auch das Phlein mit seinem hundertprozentigen Gehalt an Trimethylfructose naturgemäß an der Spitze und dient also als typischer Vertreter der Gruppe, während Lävan, Poa-in und Secalin in der Reihe nach dem Trimethylfructosegehalt folgen. Daß diese Einteilung keine allein willkürliche, sondern eine auf natürlichen Verhältnissen gegründete Anordnung ist, wird in dem folgenden Abschnitt klar gemacht werden.

E. ANHANG

GESETZMÄSSIGKEITEN DER POLYFRUCTOSANE

Bei einer Betrachtung der Eigenschaften der Polyfructosane merkt man außer der Linksdrehung und der Zusammensetzung allein aus Fructose keinen bestimmten Zusammenhang, welcher als für die Gruppe eigentümlich angenommen werden könnte. Andere Konstanten, wie die Halbumsatzzeit und die Drehung der substituierten Verbindungen verraten kein besonderes Merkmal. Man fragt sich, ob nicht eine engere Beziehung zwischen den Eigenschaften der verschiedenen Fructosane vorhanden ist, welche sie in bestimmte, natürliche Gruppen aufteilt und jede Gruppe für sich zusammenbindet. Ist nicht irgendeine Gesetzmäßigkeit da, welche ihre Eigenschaften in gewissen Richtungen und innerhalb bestimmter Grenzen regelt? Haben die Polyfrutosane nur die Linksdrehung als allgemeine Eigenschaft? Ist sonst kein Beweis für ihre Zusammengehörigkeit aufzufinden? Diese Fragen sind schwer zu beantworten, und bei dem Versuch, sie zu klären, stößt man wieder auf die Tatsache, daß das vorliegende Material weder hinsichtlich seines Umfanges noch seiner Genauigkeit ausreichend ist, die Fragen ohne Zweifel zu lösen. Man läuft daher immer Gefahr, zu weit und auf unsicheren Grund zu treten. Immerhin, weil es auch hier wie bei den meisten wissenschaftlichen Problemen gilt, daß ein vorsichtiger Versuch, wenn er keinen Nutzen bringt, doch keinen schweren Schaden anrichten kann, soll man einen interessanten Versuch unternehmen.

Als erster und einfachster gilt ein Versuch, die bekannten Polyfructosane in eine rationelle Reihenfolge einzuordnen. Als die selbstverständlichste scheint eine Anordnung nach der Teilchengröße zu sein. Man bekommt dann folgendes Bild:

Inulin	30
Irisin	20
Phlein	16
Sinistrin	15
Triticin	14
Asparagosin	10
Graminin	10
Lävan	10 (?)
Asphodelin	7
Secalin	4
Poa-in	?

Es ist ersichtlich, daß diese Anordnung keinen neuen Gesichtspunkt ergeben kann. Außerdem ist die Angabe der Teilchengröße immer mit so viel Unsicherheit verbunden, daß die Zahlen nicht als Grundlage für eine aufschlußreiche Untersuchung dienen könnten. Im Verhältnis dazu würde die spezifische Drehung bedeutend zuverlässiger sein. Bei ihrer Anwendung erhält man folgende Reihenfolge:

Irisin	—53,3°
Triticin	—51,4°
Phlein	—50,0°
Lävan	—45,3°
Sinistrin	—44,5°
Poa-in	—41°
Inulin	—40,2°
Graminin	40,0°
Secalin	—37,6°
Asparagosin	—32,4°
Asphodelin	—30,5°

Man beachte, daß alle Drehungen in demselben Lösungsmittel, in diesem Falle Wasser, genommen worden sind, weil sonst, wenn verschiedene Lösungsmittel gebraucht werden, die Drehung einer Substanz verschieden sein kann, infolgedessen ein Vergleich der Ergebnisse nicht mehr statthaft sein würde.

Die Anordnung nach der spezifischen Drehung führt zu einer anderen Reihenfolge als die vorherige, aber auch sie ergibt keinen nützlichen Aufschluß, z. B., sie ermöglicht nicht die Aufteilung in die Untergruppen Inulin und Phlein. Dasselbe gilt für eine Anordnung nach der Halbumsatzzeit, der Drehung der methylierten Kohlenhydrate und dem Prozentgehalt an Trimethylfructose.

Versucht man aber, die Substanzen nach der Drehung ihres Acetats (in Chloroform) einzuordnen, so bekommt man ein bestimmtes Ergebnis: die Fructosane lassen sich nach dem Vorzeichen der Drehungen in zwei Gruppen aufteilen:

Positive Gruppe:	Poa-in	+23°
	Lävan	+21°
	Phlein	+20,7°
	Secalin	+ 3,0°

Negative Gruppe:	Inulin	—37,2°
	Sinistrin	—23,5°
	Irisin	—22°
	Asparagosin	—20,1°
	Asphodelin	—16,6°
	Triticin	—15,5°
	Graminin	—7,2°

Die positive Gruppe entspricht derjenigen des Phleins, und die negative Gruppe umfaßt die restlichen Fructosane. Die Anordnung nach der Drehung des Acetats ermöglicht also die Einteilung in die beiden Untergruppen, aber mehr leistet sie nicht. Die Reihenfolge entspricht, z. B., weder der Löslichkeit noch der Zusammensetzung der Substanzen. Immerhin scheint die Drehung der Acetylverbindung eine besondere Bedeutung zu besitzen, und man soll versuchen, sie anderweitig anzuwenden.

Nimmt man nun die spezifische Drehung des Acetats und subtrahiert davon die spezifische Drehung des zugehörigen Polysaccharids, so bekommt man Zahlen, welche ein zweckmäßiges Einreihen der Fructosane erlauben:

Phlein	**71**
Lävan	**66**
Poa-in	**63**
Secalin	**41**
Triticin	**36**
Graminin	**33**
Irisin	**33**
Sinistrin	**21**
Asphodelin	**14**
Asparagosin	**12**
Inulin	**3**

(Die Zahlen sind klarheitshalber abgerundet).

Man sieht, wie die Mitglieder der Phlein-Gruppe wieder zusammenkommen, abgetrennt von den andern Fructosanen. Ferner entspricht die Reihenfolge innerhalb der Gruppe dem Trimethylfructosegehalt des einzelnen Glieds, so daß, wenn man den Wert für diesen neben der Differenz zwischen der Drehung des Acetats und der des Polysaccharids (als A—K bezeichnet) einträgt, man das folgende Bild bekommt:

		A—K	% Tri
Phlein-Gruppe:	Phlein	71	100
	Lävan	66	80
	Poa-in	63	?
	Secalin	41	50
„Inulin-Gruppe“:	Triticin	36	14
	Graminin	33	50
	Irisin	33	0
	Sinistrin	21	60
	Asphodelin	14	70
	Asparagosin	12	80
	Inulin	3	100

Danach nimmt der Trimethylfructosegehalt in der Phlein-Gruppe von Phlein bis Secalin, d. h., der Größe von A—K entsprechend, ab; in der anderen Gruppe, wenn man das Irisin, welches keine Trimethylfructose enthält und daher grundsätzlich anderes aufgebaut ist, außer Betracht läßt, nimmt der Trimethylfructosegehalte von Triticin bis Inulin zu, also in entgegengesetztem Sinne zu A—K. Diese Erscheinung ist wirklich merkwürdig und dient unzweifelhaft dazu, die Einteilung in die Phlein- und Nicht-Phlein-Gruppe zu bestätigen.

In gleicher Weise lassen sich die Halbumsatzzeiten und Teilchengrößen (als Anzahl der enthaltenen Fructosereste ausgedrückt) neben A—K und Trimethylfructosegehalt eintragen.

	A—K	% Tri	HUZ	Teilchengr.
Phlein-Gruppe:				
Phlein	71	100	235	16
Lävan	66	80	—	10
Poa-in	63	?	—	—
Secalin	41	50	225	4
Nicht-Phlein-Gruppe:				
Triticin	36	14	216	14
Graminin	33	50	222	10
Sinistrin	21	60	269	15
Asphodelin	14	70	288	7
Asparagosin	12	80	300	10 (20 ?)
Inulin	3	100	360	30
Irisin	33	0	225	20

Die Halbumsatzzeiten in der Phlein- sowie der Nicht-Phlein-Gruppe verändern sich regelmäßig mit dem Trimethylfructosegehalt; aber die Teilchengrößen in der letzteren Gruppe tun das nur unregelmäßig. Die Unregelmäßigkeit betrifft das Triticin, das Aspodelin und das Asparagosin. Für die beiden ersten ist eine Erklärung für die Abweichung vielleicht in der Art der Trimethylfructose zu suchen. Tatsache ist, daß während die anderen Mitglieder der Nicht-Phlein-Gruppe die 3, 4, 6-Trimethylfructose ergeben, das Triticin und Asphodelin Trimethylfructosen von unbekanntem Bau (39, 35) liefern. Beim ersten scheint es festzustehen, daß diese nicht die 3, 4, 6-Form ist. Man darf daher annehmen, daß diese beiden Fructosane, genau wie das Irisin, einen anderen Bautyp haben und daher anderen natürlichen Gruppen angehören. Setzt man nun für die Teilchengröße des Asparagosins statt 10 die Zahl 20, welche mit den Versuchsergebnissen außer der Teilchengrößebestimmung auch vereinbar ist, so bekommt man eine gleichmäßigere Reihenfolge.

	A—K	% Tri	HUZ	Teilchen
Phlein-Gruppe:				
Phlein	71 Δ	100 Δ	235 Δ	16 Δ
Lävan	66 |	80 |	— |	10 |
Poa-in	63 |	— |	— |	— |
Secalin	41	50	225	4

	A—K	% Tri	HUZ	Teilchen
Inulin-Gruppe:				
Graminin	33 △	50	222	10
Sinistrin	21	60	269	15
Asparagosin	12	80	300	(20)
Inulin	3	100 ▽	360 ▽	30 ▽
Andere Gruppen:				
Asphodelin	14	70	288	7
Triticin	36	14	216	14
Irisin	33	0	225	20

Man erhält nun außer der Phlein-Gruppe die wirkliche Inulin-Gruppe, wovon alle Mitglieder die 3, 4, 6-Trimethylfructose liefern und bestimmte, regelmäßige Abstufungen in ihren Eigenschaften zeigen. Daß diese Einteilung die natürliche und somit rationelle Gruppierung darstellt, bedarf keiner weiteren Erklärung.

Es ist nun sehr interessant und lehrreich zu beobachten, wie die Abstufungen der verschiedenen Eigenschaften verlaufen. Die Pfeile neben den Zahlen geben an, nach welcher Richtung ihre Größe zunimmt. Wieder tritt die Tatsache hervor, daß das Phlein, Lävan, Poa-in und Secalin einerseits und das Graminin, Sinistrin, Asparagosin und Inulin andererseits zwei verschiedene Gruppen darstellen. In beiden Gruppen ändern sich die Halbumsatzzeit und die Teilchengröße mit dem Gehalt an Trimethylfructose; je größer letzterer ist, desto länger wird die Halbumsatzzeit und desto größer das Molekül. Auch hier fällt noch einmal die wahrscheinlich besondere Bedeutung von A—K auf, dessen Abstufungen in den beidenGruppen verschieden verlaufen. In der Phlein-Gruppe nähert sich, je größer der Prozentgehalt an Trimethylfructose ist, die spezifische Drehung des Acetats um so mehr derjenigen des Kohlenhydrats; in der Inulin-Gruppe sind die Verhältnisse genau umgekehrt.

Bildmäßige Darstellung der Beziehungen

Um einen Beweis für die Gesetzmäßigkeit und gleichzeitig eine bessere Übersicht über den Zusammenhang zwischen den verschiedenen Eigenschaften zu gewinnen, werden die zusammengehörigen Wertpaare auf Koordinatenpapier eingetragen, mit dem Ergebnis, wie in den Abbildungen 3 bis 8. Es ist klar ersichtlich, daß für jedes Paar von Eigenschaften die erhaltenen Punkte mit gewisser Regelmäßigkeit aufeinander folgen und sich durch eine regelmäßig gekrümmte Linie verbinden lassen. Für die Phlein- und die Inulin-Gruppe werden je 6 Kurvenbilder erhalten; aber im Falle des ersteren besitzen die Kurven mit der Halbumsatzzeit als eine der Veränderlichen keinen praktischen Wert, weil davon nur 2 Werte vorliegen.

In manchen Fällen liegen die Punkte so, daß es schwer zu entscheiden ist, ob sie eine Gerade oder eine Kurve bilden. Da die meisten der erhaltenen Linien gekrümmt sind, werden diese auch so dargestellt. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß sie eine Gerade bilden könnten.

Durch die Aufstellung dieser Kurvenbilder wird festgestellt, daß der Zusammenhang zwischen den untersuchten Eigenschaften wirklich gesetzmäßig ist. Außerdem werden die Beziehungen bedeutend übersichtlicher.

Abb. 3 A-K : %TRI

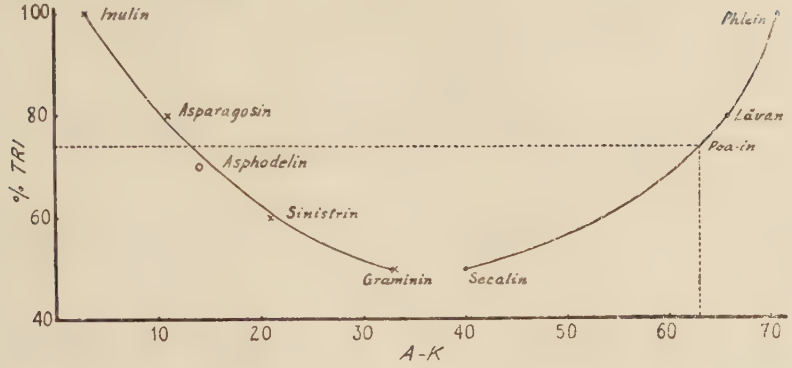


Abb. 4 A-K : HUZ

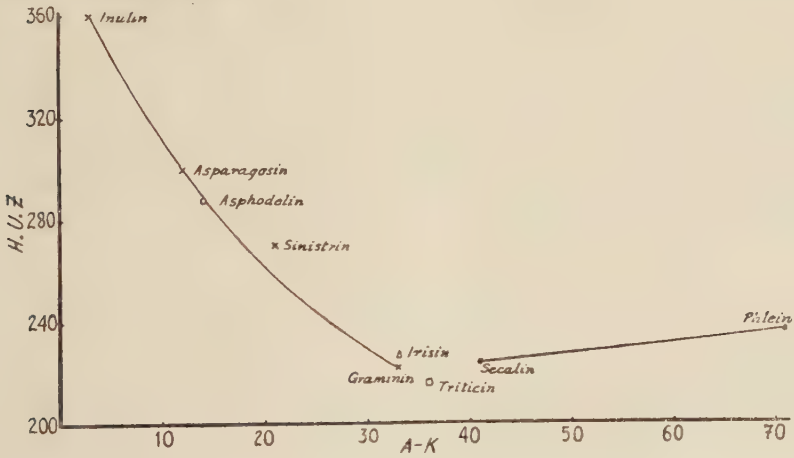
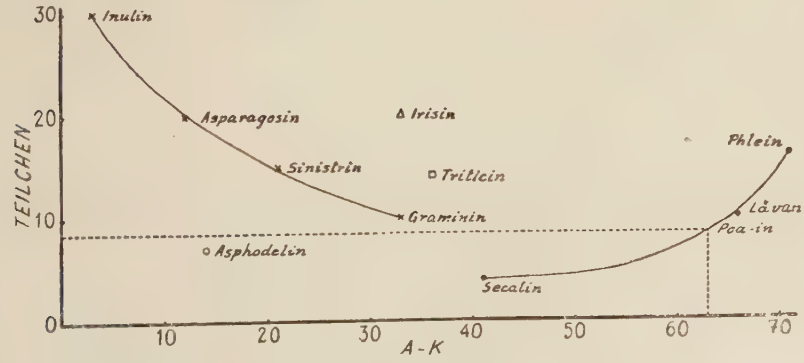


Abb. 5 A-K : TEILCHEN



Es ist leicht zu erkennen, daß diejenigen Kurven, welche die Differenz A—K als Abszisse enthalten, regelmäßiger als die anderen verlaufen. Dies ist nur ein weiterer Beweis für die besondere Bedeutung von A—K, welche sehr wahrscheinlich darin zu suchen ist, daß diese Veränderliche nicht, wie die anderen, nur aus einer, sondern aus zwei Komponenten zustandegekommen ist. Sie ist in sich ein Ausdruck der Bauverschiedenheit zwischen einem Kohlenhydrat und seinem Acetat, ist für die gegebene Substanz daher eigentümlicher und ermöglicht folglich schärfere und zuverlässigere Trennung von anderen Substanzen, als einfache Eigenschaften.

Aus der Kurve „%Tri : Teilchengröße" ersieht man, daß sich in beiden Gruppen der Trimethylfructosegehalt in demselben Sinne wie die Größe des Moleküls ändert. Je größer das Molekül ist, desto mehr Trimethylfructose enthält es, oder anders ausgedrückt, je größer das Verhältnis der Tri- zu Di- und Tetramethylfructose, desto stabiler ist das Molekül. Der Trimethylfructosegehalt ist, wie leicht verständlich, ein Ausdruck der Stabilität des Moleküls, weil er das Verhältnis zwischen den seitenkettenfreien C-Atomen in dem Kern und den seitenkettentragenden C-Atomen darstellt. Je mehr Seitenketten ein Molekül trägt, desto leichter spaltbar wird es, weil die C-Atome, die die Seitenketten tragen, schwache Stellen bilden, welche leicht von Reagenzien angegriffen werden. Vielleicht herrscht dasselbe Grundprinzip bei den Hochpolymeren wie Cellulose, Glycogen und Stärke, deren Methylverbindung nur die Trimethylglucose enthalten. Es scheint, daß je größer das Molekül ist, es desto weniger Seitenketten trägt, und sein Aufbau einfacher wird. Größere Moleküle müssen einen größeren Gehalt an Trimethylhexose besitzen, sonst werden sie unstabil und zerfallen in kleinere Teilchen.

Die Beziehung zwischen der Halbumsatzzeit und dem Trimethylfructosegehalt in den Phlein- und Inulin-Gruppen läßt sich nach der obigen Überlegung erklären. Ein Molekül mit einem kleinen Gehalt an Trimethylfructose ist wenig beständig und hat daher eine kurze Halbumsatzzeit. Interessant ist nun die Tatsache, daß das Phlein eine viel kürzere Halbumsatzzeit als das Inulin hat, obwohl die beiden genau den gleichen Prozentsatz an Trimethylfructose enthalten. Ein Grund für diese Erscheinung ist zweifellos in dem Unterschied in der Teilchengröße zu erblicken. Aber das ist wohl nicht der einzige Grund. Das Sinistrin, welches aus 14 Fructoseresten aufgebaut ist und daher ein wenig kleineres Molekül als das Phlein besitzt, und dessen Trimethylverbindung nur 60% Trimethylfructose enthält, hat immerhin eine Halbumsatzzeit von 270 Minuten, welche um 35 Minuten länger als die des Phleins ist. Hier kann weder die Teilchengröße noch der Prozentgehalt an Trimethylfructose zur Erklärung herangezogen werden. Ein deutlicher Grund ist nur in der Verschiedenheit im Bindungsprinzip des Moleküls zu suchen, und derselbe Faktor ist wahrscheinlich auch für den großen Unterschied in der Halbumsatzzeit zwischen Phlein und Inulin verantwortlich. Man darf daher annehmen, daß die Bindung 2—6 wohl nicht so beständig, wie die 1—2 ist.

Interessant ist es zu beobachten, wie auf den Kurvenbildern sich die Bildpunkte für das Asphodelin, Triticin und Irisin verhalten. Besonders auffallend ist das Benehmen des Asphodelins. In mehreren Fällen liegt

der korrespondierende Punkt für diese Substanz so nahe an der Kurve für die Inulin-Gruppe, daß es scheint, als ob er dazu gehöre. Nur bei den Kurven, bei denen die Teilchengröße eine der Koordinaten ist, fällt der Punkt für das Asphodelin ganz weg. Im Falle des Irisins und des Triticins kommt es nur einmal vor, nämlich auf der Kurve „(A—K) : HÜZ", daß die Punkte scheinbar auf derselben Kurve wie die Inulin-Gruppe liegen. In allen anderen Kurven ist ihre Verschiedenheit ganz deutlich. Es ist möglich, daß dort wo die Punkte für das Triticin und das Irisin auf die Inulin-Kurve fallen, die Stellen sind, wo die Kurven ihrer Gruppen die der Inulin-Gruppe schneiden. Wenn die Angabe der Teilchengröße des Asphodelins wirklich richtig ist, dann muß man schließen, daß seine Kurve besonders nahe der Inulin-Kurve verläuft.

Praktische Anwendung der Kurvenbilder

Es ist leicht zu ersehen, welche Bedeutung diese Kurvenbilder haben würden, wenn sie bis zur Vollendung ausgebaut werden könnten. Es ist sehr zu bedauern, daß bis jetzt nur einige Fructosane bekannt und die vorliegenden Daten zu wenig sind, um eine sichere Schlußfolgerung zu erlauben. Ist bei der Auswertung jedes Versuchsergebnisses der Einfluß des Zufalls sehr zu beachten, so muß wie in dem vorliegenden Falle die Vorsicht vervielfacht werden. Gerade weil die Überlegungen und die Bearbeitung der Ergebnisse auf wenigen Beispielen aufgebaut sind, kann ihre Übertragung auf andere Beispiele nur mit Vorbehalt und bedeutender Einschränkung durchgeführt werden. Ferner sind in diesem Falle die Daten mit keiner großen Genauigkeit verbunden, sie sind meistens Annäherungen mit weiten Fehlergrenzen. Jegliche Anwendung einer aus ihnen hervorgegangenen Formulierung ist daher nur mit voller Berücksichtigung der Verhältnisse zulässig.

In erster Linie können die Kurven dazu dienen, die Gruppierung der Polyfructosane zu erleichtern, wenn angenommen werden kann, daß die Eigenschaften aller Angehörigen einer natürlichen Gruppe derselben Gesetzmäßigkeit unterstellt sind, was aus den hervorgegangenen Überlegungen sehr wahrscheinlich ist. Danach liegen die Bildpunkte, die die Beziehungen zwischen zwei Eigenschaften darstellen, für alle Mitglieder einer natürlichen Gruppe auf derselben Kurve. Man kann daher bestimmen, zu welcher Gruppe eine Substanz gehört. Die Beispiele an Triticin, Irisin und Asphodelin zeigen jedenfalls, daß eine einzige Kurve nicht immer ausreichend ist, um zu einem zuverlässigen Ergebnis zu gelangen. Es ist ratsam, Kurven verschiedener Eigenschaftspaare anzuwenden, um Zweideutigkeit zu beseitigen.

Von den für jede Gruppe erhaltenen Kurven scheinen wegen ihrer besonderen Regelmäßigkeit diejenigen mit der Differenz A—K als Abszisse besonders gebrauchsfähig zu sein. Wenigstens sind sie zuverlässiger als die anderen. Von ihnen ist sehr wahrscheinlich die „A—K : %Tri"-Kurve die nützlichste. Den Kurven mit Teilchengröße als eine Veränderliche darf man kein großes Vertrauen schenken, weil die Werte nicht sehr zuverlässig sind.

Eine nützlichere Anwendung der Kurven ist die Bestimmung unbekannter Eigenschaften mit Hilfe von bekannten durch Extrapolieren.

Theoretisch scheint dies durchaus möglich. Ob in Praxis die Ergebnisse brauchbar sein würden, kann nur die Zukunft beweisen. Es ist selbstverständlich, daß solche Maßnahme die chemische Untersuchung keineswegs ersetzen, aber in manchen Fällen sehr schön ergänzen könnte.

Um die Anwendungsmöglichkeit der Methode zu erläutern, wird ein Versuch am Beispiel des Poa-ins gemacht. In seiner Veröffentlichung hat Haworth (23) die Mengen der Di-, Tri- und Tetramethylfructose bei der Spaltung nicht angegeben. Die Kurve„A—K : %Tri" wird daher nur aus den Punkten für Phlein, Lävan und Secalin gebildet. Durch Extrapolieren nach dem Wert 63 für A—K des Poa-ins bekommt man für „%Tri" 73—74%. Beim Nachschlagen in Haworths Arbeit kann nach den angegebenen Brechungsexponenten und Mengen der Destillate der gesamte Gehalt an Trimethylfructose zu rund 78% berechnet werden, welches gut mit dem aus der Kurve bestimmten Wert übereinstimmt. Ferner wird durch Extrapolieren an der Kurve „A—K : Teilchengröße", welche ebenfalls nur aus den Daten für Phlein, Lävan und Secalin aufgezeichnet wird, für die Teilchengröße des Poa-ins 8—9 Fructosereste erhalten, welches in Übereinstimmung mit dem anderen Ergebnis steht. Jedoch kann keine Gewähr für diese Ergebnisse gegeben werden, da es sich, wie schon erwähnt, sehr leicht um Täuschungen handeln kann. Erst wenn noch viel mehr Fructosane untersucht worden und die Kurven durch mehr Glieder stabilisiert sind, kann die Nützlichkeit der Kurven richtig ausgewertet werden.

Schlußfolgerung

Somit ist ein anschaulicher Beweis erbracht, daß bestimmte Gesetzmäßigkeiten die Beziehungen zwischen den Konstanten der Mitglieder einer natürlichen Stoffklasse beherrschen. Wenn wegen Mangel an Beispielen eine Verallgemeinerung der gemachten Beobachtungen mit großer Gefahr eines Irrtums verbunden ist, gelten folgende Angaben wenigstens für die bekannten Fälle. Innerhalb der natürlichen Gruppen der Polyfructosane findet eine regelmäßige Abstufung einzelner Eigenschaften der Mitglieder statt, welche in gewissem geregeltem Zusammenhang mit solcher anderer Eigenschaften verlaufen. Die Erkennung dieser Beziehungen ermöglicht und erleichtert eine naturgemäße Gruppeneinteilung der Polyfrutosane. Mit Hilfe von nach den zusammenhängenden Eigenschaften entworfenen Kurvenbildern könnten in geeigneten Fällen unbekannte Konstanten bestimmt werden, und es bietet sich damit eine Möglichkeit, ungewisse Versuchsergebnisse zu ergänzen und zu bestätigen.

F. ZUSAMMENFASSUNG

1. Das Phlein ist ein einheitliches Kohlenhydrat, das aus wässrigen Auszügen der zwiebelförmigen Verdickungen des Stengelgrundes des Wiesenlieschgrases Phleum pratense var. nodosum (L.) gewonnen werden kann, und besitzt folgende Konstanten:
   αD^{20} : —50,0° (Wasser, c = 1, 1dm),
   Halbumsatzzeit: 235 Minuten,
   Reduktionswert: praktisch Null,
   Teilchengröße: 2560, entspr. 15—16 Fructoseresten,
   Schmelzpunkt: 220°.

Es ist mit Irisin nicht identisch.

2. Seine Bausteine bestehen lediglich aus Fructose.
3. SeinTriacetat hat eine spezifische Drehung von +20,7° (Chloroform, c = 1, 1dm), Schmelzpunkt 233° und läßt sich restlos in das unsubstituierte Kohlenhydrat verseifen.
4. Das permethylierte Phlein zeigt eine spezifische Drehung von —57,7° (Chloroform, c = 1, 1 dm) und schmilzt bei 172°.
5. Die Spaltung dieses Derivates mit alkoholischer Oxalsäure liefert nur eine Trimethylfructose, deren Eigenschaften, nämlich,
   αD: —47,6° (Wasser, c = 1, 1 dm),
   nD: 1,4650,
   Schmelzpunkt: 75°,
   mit denen der 1, 3, 4-Trimethylfructose übereinstimmen.
6. Dadurch wird die Analogie des Phleins zum Inulin festgestellt. Der Unterschied liegt nur in der Molekülgröße und der Art der Bindung zwischen den Fructoseresten. Indem beim Inulin die Verknüpfung bekanntlich an den ersten und zweiten C-Atomen stattfindet, muß sie beim Phlein an den zweiten und sechsten eingetreten sein.
7. Das Fehlen der Tetra- und Dimethylfructose in den Spaltprodukten ist maßgebend für die Annahme, daß das Phlein eine Ringstruktur besitzt, und zwar ohne jegliche Seitenkette.
   In dem Phlein ist daher eine neue Stütze der Ringtheorie der Fructosane gefunden.
8. Es wird besonders darauf hingewiesen, daß die Acetylverbindung aller bisher untersuchten Polyfructosane, deren Methylprodukt die 1, 3, 4-Trimethylfructose bei der Säurehydrolyse ergibt, rechtsdrehend ist. Es scheint nicht ausgeschlossen zu sein, daß ein rechtsdrehendes Acetat eigentümlich und daher kennzeichnend für solche Polyfructosane ist, deren methylierte Form die kristallisierte 1, 3, 4-Trimethylfructose enthält.
9. In dem Anhang wird es wahrscheinlich gemacht, daß die Polyfructosane bestimmten Gesetzmäßigkeiten, in Bezug auf regelmäßige Abstufungen ihrer Eigenschaften und Konstanten, gehorchen. Die Erkennung dieser Gesetzmäßigkeiten ermöglicht eine natürliche Gruppierung der Fructosane, ergibt verschiedene Aufschlüsse hinsichtlich ihrer Natur und könnte in geeigneten Fällen zur Voraussage mancher Eigenschaften führen.

Versuchsteil

A. PHLEIN

Gewinnung und Reinigung

Vers. 1 Darstellung des Ausgangsmaterials

Zur Verfügung standen mir 450 g Rohphlein, das aus etwa 30 kg Ende Oktober 1937 geerntetem Phleum pratense var. nodosum gewonnen war.

Außerdem wurden etwa 15 kg Anfang März 1939 geerntetes Phleum folgendermaßen von mir verarbeitet.

Von den frischen Pflanzen wurden die „Knollen" abgetrennt und von Sand befreit. Insgesamt wurden 2,5 kg Knollen gesammelt. Sie wurden unter Zusatz von Calciumcarbonat in eisernem Mörser zerstampft, eine Stunde bei 40° mit Wasser ausgezogen und dann ausgepreßt.. Der Preßrückstand wurde nochmals eine Stunde bei 60° mit Wasser extrahiert. Die gesammelten Auszüge wurden bei 40° mit basischem Bleiacetat versetzt und durch Colation vom ausgefällten Eiweiß befreit. Das überschüssige Blei wurde mittels Schwefelwasserstoffs entfernt, und das eiweiß- und bleifreie Filtrat wurde in der Schnellverdampfapparatur bei 60° in vacuo eingedampft. Der zurückgebliebene, dicke, dunkelbraune Syrup wurde mit möglichst wenig Wasser von 40° herausgelöst und mit einem Überschuß von 96-prozentigem Äthanol versetzt. Es fiel ein hellbraun gefärbter Niederschlag heraus, der sich schnell absetzte und sich durch Filtration von den Lösungsmitteln leicht abtrennen ließ. An der Luft langsam getrocknet, nahm er die Gestalt harter, eckiger Massen an, die wenig hygroskopisch waren und sich sehr schwer pulverisieren ließen. Die Ausbeute an Rohphlein betrug 80 g.

Eine kleine Probe wurde einmal mit Wasser abgedampft, dann 2 Stunden bei 40° an der Wasserstrahlpumpe vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet. Die Substanz zeigte eine spezifische Drehung von —30,3° (Wasser, c = 1, 1 dm).

Vers. 2 Reinigung

Das übernommene sowie das selbst aufgearbeitete Rohphlein wurden durch Fällung mit Äthanol aus wässriger Lösung gereinigt, zumal ein Vorversuch gezeigt hatte, daß die Verunreinigungen in der alkoholischen Lösung zurückblieben, während das Kohlenhydrat im Alkohol unlöslich war.

Das Rohphlein war ziemlich schwer löslich in kaltem Wasser, und die Löslichkeit nahm schnell mit steigendem Reinheitsgrad ab. Es wurde

daher für die späteren Fällungen notwendig, um eine genügend konzentrierte Lösung des Kohlenhydrats zu erzielen, die Substanz in heißem Wasser aufzulösen . Um das Phlein dabei möglichst zu schonen, wurde eine Menge der Substanz mit einem geeigneten Volumen Wassers in einem Wasserbad von 80° solange kräftig umgerührt, bis die Substanz in Lösung gegangen war, was gewöhnlich innerhalb 5 Minuten geschah, und dann unter der Wasserleitung schnell abgekühlt. In dieser Weise wurden Lösungen von fünf- bis achtprozentiger Konzentration bereitet.

Die Fällung erfolgte bei Zimmertemperatur, und zwar durch tropfenweise Zugabe des 96-prozentigen Alkohols, unter kräftigem Umschwenken des Kolbens. Dadurch wurde immer ein feinpulveriger, schnell absitzender Niederschlag erhalten. Das anfangs ausgefallene Kohlenhydrat löste sich wieder im Überschuß des Wassers auf. Bei einer Alkoholkonzentration von etwa 50% wurde eine bleibende Trübung beobachtet, und bei 65- bis 70-prozentiger Konzentration war die Fällung vollständig. Nach zwei- bis dreistündigem Stehen hatte sich das Kohlenhydrat als hellbrauner oder weißer Niederschlag auf dem Boden des Kolbens abgesetzt, und die überstehende Flüssigkeit wurde wasserklar, wenn die verwendete wässrige Lösung nicht zu verdünnt war.

Die Muterlauge wurde soweit wie möglich abgegossen. Der Rest wurde durch Filtration oder Zentrifugieren von dem Niederschlag abgetrennt und der Hauptmenge zugefügt. Die gesammelte Mutterlauge wurde bei 40° in vacuo zur Trockne eingedampft, während der Niederschlag zur weiteren Fällung genommen wurde.

Der Fortschritt der Reinigung wurde an Hand der spezifischen Drehung verfolgt.

Zwecks Bestimmung der spezifischen Drehung wurde eine Probe des Kohlenhydrates einmal mit der fünfzigfachen Menge Wassers bei 40° im Vakuum abgedampft, nach Pulverisieren unter denselben Bedingungen vorgetrocknet und schließlich, nach nochmaligem Pulverisieren, 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet. Die spezifische Drehung wurde in Wasser genommen.

Die Reinigung ging verhältnismäßig schnell vor sich. So zum Beispiel im Falle des Phleins-P (der übernommenen Substanz) erreichte die Drehung schon nach der sechsten Fällung den Endwert —50°. Folgende Zusammenstellung zeigt den Fortschritt der Reinigung.

a. Phlein-P

Substanz	α D°	Mutterlauge	α D°
PP 0	—35,5	—	—
PP 1	—42,1	1	—24,3
PP 2	—46,2	2	—25,9
PP 3	—49,5	3	—31,8
PP 4	—48,6	4	—41,8
PP 5	—48,7	5	—45,3
PP 6	—50,0	6	—47,6
PP 7	—50,1	7	—48,2

(Die Zahlen nach den Bezeichnungen deuten auf die Nummer der Fällung hin)

b. Phlein-N

Substanz	αD°	Mutterlauge	αD°
PN 0	—32,0	—	—
PN 1	—39,9	1	—20,2
PN 2	—41,3	2	—23,3
PN 3	—42,0	3	—26,5
PN 4	—43,1	4	—29,0
PN 5	—43,5	5	—36,1
PN 6	—43,8	6	—36,7
PN 7	—44,1	7	—36,3
PN 8	—44,3	8	—38,0
PN 9	—46,0	9	—37,9

(Phlein-N = selbst aufgearbeitetes Phlein)

Es wurde bemerkt, daß das Phlein-N sich bedeutend schwerer reinigen ließ, als das Phlein-P. Außerdem wurden kleine Unterschiede in dem Verhalten beim Auflösen und Fällen beobachtet. Da es möglich war, daß die beiden Substanzen nicht ganz identisch waren, wurde auf das Phlein-N verzichtet und die Untersuchungen wurden nur am Phlein-P ausgeführt.

Vers. 3 Entfernung des adsorbierten Alkohols

Eine Probe des mit Äthanol gefällten Phleins (PP 6) wurde in zwei Teile geteilt. Ein Teil wurde 2 Stunden bei 40° vorgetrocknet, 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet und nach Zeisel (Halbmikro-Methode) auf Alkohol untersucht. Er zeigte einen Alkoholgehalt von 0,82%.

Der andere Teil wurde zunächst mit der etwa fünfzigfachen Menge Wassers bei 40° im Vakuum abgedampft, nach Zerreiben im Mörser wie der vorgegangene Teil vor- und nachgetrocknet. Das Ergebnis der Methylbestimmung war negativ.

Der anhaftende Alkohol konnte also durch einmaliges Abdampfen der Substanz mit Wasser vollständig entfernt werden.

Vers. 4 Einfluß des Auflösens auf das Phlein

Eine Probe Phlein (PP 5) wurde einmal mit Wasser abgedampft, 2 Stunden bei 40° im Vakuum vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet. 2 Fraktionen von je 0,08 g wurden abgewogen und in Meßkolben von 25 ccm eingetragen. Kolben A wurde bis zum Strich mit Wasser aufgefüllt, und sein Inhalt wurde durch längeres Schütteln mit einigen Glasperlen zur Lösung gebracht. Der Inhalt des anderen Kolbens B wurde in der im Vers. 2 beschriebenen Weise aufgelöst. Die spezifischen Drehungen der beiden Lösungen wurden verglichen.

Fraktion A: Einwage 0,0820 g, $\alpha = -0{,}285^\circ$ (2 dm),
$\alpha D = -43{,}4^\circ$

Fraktion B: Einwage 0,0851 g, $\alpha = -0{,}30^\circ$ (2 dm),
$\alpha D = -44{,}0^\circ$

Der Unterschied zwischen den beiden Ergebnissen lag innerhalb der Fehlergrenzen.

Von derselben vorbehandelten Phleinprobe wurden 2 weitere Fraktionen von je 0,08 g abgewogen. Durch Schütteln mit Glasperlen in einem kleinen Rundkolben während 8 Stunden wurde eine Fraktion (C) ohne Erwärmung zum Auflösen gebracht. Die andere Fraktion (D) wurde durch kurzes Erwärmen in einem Wasserbad von 80°, wie im Vers. 2 beschrieben,

aufgelöst. In beiden Fällen war die gleiche Menge Wasser, 20 ccm, gebraucht. Der Reduktionswert der Lösungen wurde nach der Methode von Bertrand bestimmt.

Fraktion C: Einwage 0,0811 g,
Reduktionswert = 0.

Fraktion D: Einwage 0,0847 g,
Reduktionswert = 0.

Die Art der Auflösung, wie im Vers. 2, beeinflußte weder die spezifische Drehung noch den Reduktionswert des Phleins.

Vers. 5 Trocknungsversuche

Um die günstigsten Trocknungsbedingungen festzustellen, wurden verschiedene Proben einer Phleinfraktion (PP 7) einmal mit Wasser abgedampft, 2 Stunden bei 40° vorgetrocknet, fein gerieben und während verschiedener Zeiten bei einigen Badtemperaturen im Hochvakuum nachgetrocknet. Von jeder Probe wurde die spezifische Drehung genommen (Wasser, c = 1, 1 dm).

Probe	Nachtrocknung	αD^c	
F 0	1 Std. bei 60 Grad	—49,2	
F 1	2 „ „ 60 „	—47,7	§
F 2	4 „ „ 60 „	—49,4	
F 3	8 „ „ 60 „	—48,7	
F 4	2 „ „ 80 „	—49,7	§
F 5	4 „ „ 80 „	—48,2	
F 6	8 „ „ 80 „	—47,8	
F 7	1 „ „ 100 „	—49,4	
F 8	2 „ „ 100 „	—48,4	
F 9	4 „ „ 100 „	—46,7	

Die tiefste Drehung (mit § bezeichnet) wurde also erzielt, nach zweistündiger Trocknung im Hochvakuum bei 60°. Ferner zeigten die Ergebnisse deutlich, daß das Phlein in trocknem Zustand ziemlich temperaturempfindlich war. Aus diesem Grunde wurde eine Trocknung bei 60° bevorzugt.

Angewandt wurden also folgende Trocknungsbedingungen: Einmaliges Abdampfen mit Wasser bei 40° im Vakuum, Pulverisieren, zweistündiges Trocknen bei 40° im Wasserstrahlvakuum, nochmaliges Zerreiben, und zweistündige Trocknung bei 60° im Quecksilberstrahlvakuum.

Vers. 6 Zum Beweis, daß das Phlein erst nach Abgabe des anhaftenden Wassers durch Temperaturerhöhung abgebaut wurde.

Eine Probe Phlein (PP 7) wurde, nach Abdampfen mit Wasser, 2 Stunden bei 40° im Vakuum vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet. Zwei Proben von je 0,1 g wurden in Glasampullen A und B gleicher Größe eingewogen. Der Inhalt der Ampulle A wurde durch kurzes Aufblasen mit Wasserdampf leicht befeuchtet, dann wurden die beiden Ampullen luftdicht zugeschmolzen und 4 Stunden in einem Wasserbad auf 95° gehalten. Der Inhalt jeder Ampulle wurde in 10 ccm Wasser aufgelöst, und die spezifische Drehung der Lösungen genommen.

Um den Einfluß des Zufalls zu vermindern, wurde der Versuch zweimal ausgeführt.

Substanz		1. Versuch αD°	2. Versuch αD°
A		—49,0	—48,3
B		—47,3	—46,7
C	(nur 2 Std. in H.V.60°)	—49,5	—49,3

Die Ergebnisse zeigten, daß die Feuchtigkeit wenigstens einen schonenden Einfluß auf das Kohlenhydrat ausübte.

Vers. 7 Spezifische Drehung des Phleins

Es wurde versucht, durch wiederholte Umfällung die spezifische Drehung des Phleins tiefer als —50° zu bringen (Wasser, c = 1, 1 dm).

Substanz	αD°	Mutterlauge	αD°
PP 8	—50,1	8	—49,1
PP 9	—50,0	9	—49,3
PP 10	—50,0	10	—49,6
PP 11	—50,1	11	—49,4
PP 12	—49,8	12	—49,4

Die Ergebnisse bewiesen, daß die Substanz rein war und eine spezifische Drehung von —50,0° besaß.

Vers. 8 Einheitlichkeitsbeweis

10 g des gereinigten Phleins (PP 10) mit einer spezifischen Drehung von —50,0° wurden in 4 Teile geteilt, und die spezifische Drehung jeder Fraktion wurde bestimmt.

PP 10a: Menge 2,2 g, αD = —50,1°
PP 10b: Menge 2,6 g, αD = —49,8°
PP 10c: Menge 3,0 g, αD = —50,1°
PP 10d: Menge 2,2 g, αD = —49,7°

Die kleinen Unterschiede lagen innerhalb der Fehlergrenze.
Die Substanz war einheitlich.

Vers. 9 Aschengehalt

0,2502 g Phlein (PP 12) wurden im Porzellanschiffchen im Sauerstoffstrom verbrannt. Sie hinterließen 0,0004 g Asche, welche einem Aschengehalt von 0,16% entsprach.

Vers. 10 Stickstoffgehalt

Der Stickstoffgehalt wurde nach der Mikromethode bestimmt. Mit einer Einwage von 0,0198 g (PP 12) war das erhaltene Gasvolumen nicht abzulesen.

Das Phlein enthielt praktisch keine Stickstoffverbindung.

Vers. 11 Reduktionswert

Es wurde der Reduktionswert des Roh- (PP 0) und des gereinigten Phleins (PP 12) nach Bertrand bestimmt.

a. PP 0 (Rohphlein): Einwage 0,3107 g,
Reduktionswert = 0,275%
b. PP 12 (gereinigtes Phlein): Einwage 0,3028 g,
Reduktionswert = 1,84%
(Als Fructose berechnet).

B. ACETYLPHLEIN

Acetylierungsversuche

Vers. 12 Acetylierung nach Haworth und Streight

20 g des fein pulverisierten, im Hochvakuum getrockneten Phleins, (PP 7) wurden mit 200 ccm wasserfreiem Pyridin (zweimal mit KOH gekocht, einmal über Baryt abdestilliert) 2 Stunden bei 40°, eine Stunde bei 60° und eine Stunde bei 80° mechanisch gerührt. Nur ein kleiner Teil des Kohlenhydrats ging in Lösung. Nach weiterem achtzehnstündigem Umrühren bei Zimmertemperatur blieb der größere Teil immer noch ungelöst. Es wurde trotzdem acetyliert. 40 ccm reinen, frich destillierten Essigsäureanhydrids wurden im Laufe von 6 Stunden bei 40° unter kräftigem Rühren zugetropft. Dann wurden weitere 80 ccm innerhalb einer Stunde zugegeben. Das Gemisch wurde 14 Stunden weiter gerührt. Auch dann war weniger als die Hälfte des Phleins in Lösung gegangen.

Das ungelöste Phlein wurde abfiltriert und die klare, braune Pyridinlösung wurde in etwa die zwanzigfache Menge Eiswasser unter starkem Rühren langsam eingegossen. Eine kleine Menge weißen, flockigen Niederschlages fiel aus. Er wurde zum Absitzen gelassen, dekantiert, abgenutscht und auf Tonteller abgepreßt. Nach dem Trocknen im Vacuumexsiccator über Kalilauge wurde gewogen.

Ausbeute 2,2 g (6,9% der Theorie).

Die Mutterlauge wurde bei 60° im Vacuum bis zur Trockne eingedampft. Es hinterblieb ein weißer Rückstand (6 g) mit einer spezifischen Drehung von —11,0°, welcher wahrscheinlich teilweise acetylierte Anteile enthielt.

Der nicht in Lösung gegangene Teil wurde mit Äthanol ausgespült und dann einmal aus Wasser umgefällt. Er zeigte eine spezifische Drehung von —49,1°, war also unverändertes Phlein.

Phlein ließ sich nicht ohne weiteres nach der Methode von Haworth acetylieren.

Vers. 13 Quellversuch

20 g Phlein (PP 7) wurden mit 200 ccm wasserfreiem Pyridin übergossen und 14 Tage lang unter häufigem Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das Kohlenhydrat zeigte keine merkbare Veränderung. Das Gemisch wurde dann stark mechanisch umgerührt, je 2 Stunden bei 20°, 60°, 80° und 90°. Nach weiterem zwölfstündigen Rühren bei Zimmertemperatur wurde eine teilweise Auflösung beobachtet. Es wurde wie üblich bei 80° acetyliert. Nach Abfiltrieren des Rückstandes (11 g) wurde die Lösung in Eiswasser gegossen. Eine kleine Menge weißen Niederschlages wurde erhalten.

Ausbeute 2 g (6,3% der Theorie).

Vers. 14 Nachacetylierung

Die Mutterlauge vom Vers. 13 wurde bei 60° im Vacuum bis zur Trockne eingedampft. Der weiße Rückstand (5 g) wurde zusammen mit dem getrockneten, ungelösten Phlein (Vers. 13) nach feinem Zerreiben 2 Stunden bei 60° im Vacuum getrocknet. Das Pulver wurde in 320 ccm

absolutem Pyridin 2 Stunden bei 20°, 2 Stunden bei 40°, 2 Stunden bei 80°, dann 2 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Ein Teil ging in Lösung. Es wurde bei 80° acetyliert.

Ausbeute 5 g (19,1% der Theorie).

Vers. 15 Acetylierung in wässrigem Pyridin mit Nachacetylierung in absolutem Pyridin

10 g feinpulverisierten Phleins (PP 8) wurden mit 20 ccm Wasser übergossen und 30 Minuten bei 40° umgerührt, dann 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das Kohlenhydrat war scheinbar wenig aufgequollen. Der Lösung wurden 180 ccm reinen Pyridins zugegeben, worauf das Gemisch je 2 Stunden bei 20°, 40° und 80° gerührt wurde. Mehr als die Hälfte des Kohlenhydrats ging in Lösung. Es wurden zunächst 20 ccm frisch destillierten Essigsäureanhydrids in 6 Stunden zugetropft, dann 40 ccm in einer Stunde. Das Gemisch wurde 12 Stunden weiter bei Zimmertemperatur gerührt, dann, ungeachtet des Ungelösten, in 2 Liter Eiswasser gegossen. Das Wasser wurde bei 60° im Vacuum völlig abgedampft. Der Rückstand wurde fein gerieben, 2 Stunden weiter bei 60° im Vacuum getrocknet, in 100 ccm wasserfreiem Pyridin wie oben aufgelöst, wobei ein größerer Teil als vorher in Lösung ging, und schließlich bei 80° acetyliert.

Ausbeute 6 g (40,6% der Theorie).

Vers. 16 Nachacetylierung in derselben Lösung

10 g feingepulverten Phleins wurden mit 100 ccm wasserfreien Pyridins gerührt, und zwar 2 Stunden bei 40°, 2 Stunden bei 60° und 2 Stunden bei 80°. Es wurde trotz der geringen Auflösung des Kohlenhydrats bei 60° acetyliert. Statt in Eiswasser gegossen zu werden, wurde das Reaktionsgemisch in verschlossenem Gefäß über Nacht stehen gelassen, dann 2 Stunden bei 60° gerührt und bei 80° noch einmal acetyliert. Ein großer Teil des Phleins blieb ungelöst. Nach weiterem dreistündigem Rühren wurde die Pyridinlösung in Eiswasser gegossen.

Ausbeute 2,5 g (16,9% der Theorie).

Vers. 17 Acetylierung in Stufen.

10 g getrockneten Phleins wurden mit 100 ccm entwässertem Pyridin 2 Stunden bei Zimmertemperatur, 2 Stunden bei 60° und 2 Stunden bei 80° gerührt. Nach weiterem vierstündigem Rühren bei Zimmertemperatur wurden bei 80° 200 ccm reinen Essigsäureanhydrids während 6 Stunden zugegeben. Darauf wurde 1 Stunde bei 80° umgerührt und dann 8 Tage mit häufigem Umschütteln in verschlossenem Gefäß stehen gelassen. Im Laufe der Zeit wurde die Pyridinlösung merklich dunkler, jedoch blieb ein großer Teil des Phleins ungelöst. Das Gemisch wurde dann 2 Stunden bei 60° gerührt und in einer Stunde mit 40 ccm Essigsäureanhydrid versetzt. Nach dreistündigem Umrühren bei 60° wurde das Reaktionsgemisch 3 Tage stehen gelassen. Ein bedeutender Teil des Kohlenhydrats blieb unverändert. Das Gemisch wurde in Eiswassergegossen, das Wasser im Vakuum abgedampft, und der Rückstand in absolutem Pyridin wie im Vers. 14 nachacetyliert.

Ausbeute 3 g (20,3% der Theorie).

Vers. 18 Endgültiges Verfahren

Aus den Ergebnissen der beschriebenen Versuche ging hervor, daß die Ausbeute der Acetylierung größtenteils von dem Auflösen des Phleins im Pyridin abhängig war, und daß eine Nachacetylierung nicht zu vermeiden wäre. Einmal in Wasser aufgelöst, blieb das Phlein auch nach Zugabe des Pyridins in Lösung, aber weil die Substanz selbst in Wasser sehr schwer löslich war, war es für die Acetylierung nicht ausführbar, die ganze Menge Phlein zuerst in Wasser aufzulösen. Ferner, das Eingießen in Wasser nach der ersten Acetylierung und das folgende Abdampfen des Wassers gefährdeten das Kohlenhydrat und verursachten Verluste, waren also wenn möglich zu vermeiden. Aus diesen Überlegungen entwickelte sich das folgende Verfahren.

20 g fein geriebenen Phleins wurden mit 60 ccm destillierten Wassers 1 Stunde bei 60° gerührt. Die Substanz wurde teilweise gequollen. Sie wurde mit 140 ccm reinen Pyridins versetzt, 18 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt, dann 1 Stunde bei 80°, 6 Stunden bei Zimmertemperatur, 1½ Stunden bei 95° und schließlich 8 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Der größere Teil des Phleins ging dabei in Lösung. Nun wurden ¾ des Lösungsmittels bei 60° im Vacuum abdestilliert, wobei nur noch wenig Wasser zurückbleiben konnte. Zu der dicken Lösung wurden 150 ccm Pyridin zugegeben, und das Gemisch wurde 2 Stunden bei 60° gerührt, wobei eine bislang noch nicht erreichte Auflösung des Phleins erzielt wurde. Die gelöste Substanz wurde bei 60° acetyliert. Nur ein kleiner Teil des Phleins blieb ungelöst.

Zur Nachacetylierung wurde das Gemisch bei 60° im Vacuum bis zur Trockne eingedampft. Nach dem Zerreiben wurde der Rückstand 2 Stunden weiter getrocknet, dann mit 200 ccm wasserfreien Pyridins übergossen und 2 Stunden bei 60° gerührt. Annähernd völlige Auflösung trat ein. Es wurde wie gewöhnlich acetyliert.

Ausbeute 25 g (84% der Theorie).

Es wurden 3 weitere Ansätze in der beschriebenen Weise acetyliert. Die Ausbeute in jedem Falle war recht befriedigend.

PA 2:	Ansatz 20 g,	Ausbeute 27,0 g = 93,1% der Theorie.
PA 3:	Ansatz 30 g,	Ausbeute 42,3 g = 94,5% der Theorie.
PA 4:	Ansatz 30 g,	Ausbeute 40,0 g = 90,0% der Theorie.

Eigenschaften des Acetylphleins

Vers. 19 Reinigung des Acetats

Das Acetylphlein wurde durch Fällung aus Chloroformlösung mit Äthanol von Verunreinigungen befreit. Die Substanz wurde in möglichst wenig Chloroform gelöst, wobei die Lösung eine dunkelbraune Farbe annahm. Die Farbe trat auch auf, wenn die gelöste Substanz rein weiß aussah, und war nicht durch Kochen mit Tierkohle zu entfernen. Die Chloroformlösung wurde unter ständigem Schwenken des Kolbens tropfenweise mit 96-prozentigem Alkohol versetzt, bis die Fällung vollständig war. Das Acetat fiel als ein weißer Niederschlag aus und wurde, nach Dekantieren der Mutterlauge, abgenutscht. Es wurde schnell bei 60° in Vacuum getrocknet, pulverisiert, wieder aufgelöst und weiter umgefällt.

Wenn das frisch umgefällte Acetat langsam an der Luft getrocknet wurde, nahm es die Gestalt dunkelbrauner, hornartiger Kuchen an, die sehr schwer zu zerreiben waren. Wenn nachher die Substanz feinpuverisiert wurde, verschwand die dunkle Farbe.

Bei der Reinigung wurde eine besondere Schwierigkeit angetroffen, nämlich, die Trennung der Chloroformlösung des Acetats von unlöslichen Anteilen. Wegen der Flüchtigkeit und der syrupösen Beschaffenheit der Lösung war Filtrieren nicht ausführbar. Zentrifugieren führte zu keinem brauchbaren Ergebnis, weil das Chloroform eine größere Dichte als die Teilchen hatte. Nach verschiedenen vergeblichen Versuchen wurde das Ziel dadurch erreicht, daß die Dichte des Lösungsmittels zuerst durch Zugabe von etwa der Viertelmenge Alkohol herabgesetzt und dann die Lösung zentrifugiert wurde.

Es war notwendig, die Substanz vor weiterer Umfällung vollständig zu trocknen, weil die Anwesenheit geringer Mengen Wasser die Auflösung der Substanz in Chloroform sehr verzögerte.

Der Fortschritt der Reinigung wurde durch die spezifische Drehung bewiesen. Zur Bestimmung wurde die Substanzprobe 2 Stunden bei 40° im Vakuum vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet. Es hatte sich gezeigt, daß diese Behandlung genügte, das Acetat von den Lösungsmitteln zu befreien.

Folgende Tabelle zeigt ein typisches Bild des raschen Fortschrittes der Reinigung.

Substanz		αD°	αD° Mutterlauge
PA 0	(ungerein.)	+30,9	—
PA 1		+21,0	+25,0
PA 2		+20,7	+23,7
PA 3		+20,8	+21,7
PA 4		+20,7	+21,4

(Chloroform, c = 1, 1 dm)

Das pulverisierte, gereinigte Phleinacetat war schneeweiß und zeigte hohe Elektrisierbarkeit beim Reiben.

Vers. 20 Acetylbestimmung

Zur Bestimmung des Acetylgehaltes wurden 0,2085 g getrockneten, reinen Phleinacetats mit 50 ccm wässriger Natronlauge (n/5) in einer verschlossenen Stöpselflasche längere Zeit geschüttelt. Nach 18 Stunden war die Substanz völlig aufgelöst. Von Zeit zu Zeit wurden 5 ccm der Lösung herausgenommen und die unverbrauchte Lauge mit n/10 Schwefelsäure zurücktitriert, bis der höchste, konstante Wert an verbrauchter NaOH erreicht wurde

Dauer des Schüttelns	Verbrauch an n/5NaOH	Acetylgehalt
18 Std.	10,75 ccm	44,3%
22 Std.	10,75 ccm	44,3%
26 Std.	10,93 ccm	44,6%
	Theoret. Wert	44,8%

Das Phlein war vollständig acetyliert.

Vers. 21 Spezifische Drehung

Eine Probe gereinigten Phleinacetats (PA 4) wurde 2 Stunden bei 40° im Vakuum vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet, dann in 4 Teile aufgeteilt. Von jedem wurde die sprezifische Drehung genommen.

PA 4a: $\alpha D = +20{,}7°$
PA 4b: $\alpha D = +20{,}6°$
PA 4c: $\alpha D = +21{,}0°$
PA 4d: $\alpha D = +20{,}6°$
(Chloroform, c = 1, 1 dm)

Das Acetat war also einheitlich und besaß eine spezifische Drehung von +20,7°.

Vers. 22 Schmelzpunkt

Das Phleinacetat, langsam erhitzt, fing bei 226° an, zu erweichen, und schmolz bei 233° unzersetzt durch.

Entacetylierungsversuche

Vers. 23 Entacetylierung nach Zemplén

4 g Acetylphlein wurden mit 80 ccm absolutem Methanol unter Rückfluß 10 Minuten lang gekocht. Keine Auflösung war beobachtet. Das Gemisch wurde mit 2 ccm n/10 Natriummethylat versetzt, 20 Minuten gekocht, dann über Nacht stehen gelassen. Das Acetat blieb unverändert, und Versetzen seines wässrigen Auszuges mit überschüssigem Äthanol rief keine Trübung hervor.

Der Versuch wurde unter Anwendung von 5 ccm Natriummethylat und mit einstündigem Kochen wiederholt. Es erfolgte nur sehr schwache Reaktion.

Noch kräftigere Bedingungen wurden bei dem dritten Versuch angewandt. 2 g Acetat wurden in 24 ccm absoluten Methanols suspendiert, mit 6 ccm Natriummethylat versetzt und 4 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die Substanz schien wenig verändert zu sein. Sie wurde abgenutscht, mit wenig Methanol nachgespült und mehrmals mit kleinen Mengen Wasser (80°) ausgezogen. Die Auszüge wurden bei 40° im Vakuum weitgehend eingeengt und mit überschüssigem Äthanol versetzt. Der ausgefallene, weiße Niederschlag wurde abgenutscht und dann noch einmal umgefällt.

Ausbeute 0,2 g. $\alpha D = -33°$ (Wasser, c = 1, 1 dm).

Der unlösliche Rückstand wurde erneut mit einem Gemisch von Methanol und Natriummethylat in dem Verhältnis 3 : 1 vier Stunden gekocht. Das abgenutschte Produkt war in Wasser leicht löslich, erzeugte aber keinen Niederschlag beim Versetzen mit Äthanol. Das Kohlenhydrat war wahrscheinlich zersetzt.

Die Methode nach Zemplén war also nicht ohne weiteres anwendbar, da das Phleinacetat in Methanol nicht löste.

Da Chloroform, in welchem das Acetat leicht löslich war, sich als Lösungsmittel in diesem Falle nicht eignete, weil es mit dem Natrium methylat reagierte, wurde ein Versuch mit Tetrachlorkohlenstoff gemacht. 2 g Acetylphlein wurden mit 24 ccm Tetrachlorkohlenstoff und 6 ccm Natriummethylat 2 Stunden bei 80° erwärmt. Kein Abbau des Acetats war nachweisbar.

Vers. 24 Entacetylierung nach Pringsheim und Aronowsky (40)

2 g Acetylphlein wurden in 20 ccm Methanol suspendiert, und die Suspension wurde portionsweise und unter Umrühren in 20 ccm einer 40-grad-warmen, zehnprozentigen Natronlauge gegossen. Da keine merkbare Reaktion eintrat, wurde 2 Stunden bei 60° weiter erwärmt. Die unlösliche Substanz wurde mit heißem Wasser (80°) ausgezogen und mit Äthanol versetzt. Eine kleine Menge Niederschlag fiel aus. Die Ausbeute war weniger als 0,5 g.

Die Methanol-Natronlauge-Lösung wurde mit verdünnter Essigsäure neutralisiert und mit Alkohol im Überschuß versetzt. Es bildete sich kein Niederschlag.

Vers. 25 Entacetylierung mit wässriger Natronlauge

1 g des Acetats wurde in 20 ccm fünfprozentiger Natronlauge suspendiert und unter Umrühren langsam auf 60° erwärmt. Nach 15 Minuten wurde der größere Teil der Substanz aufgelöst. Die Lösung wurde mit der gleichen Menge Wasser verdünnt, mit Essigsäure neutralisiert, und mit Äthanol versetzt. Der erhaltene Niederschlag zeigte eine spezifische Drehung von —48,6°.

Ausbeute 0,3 g (43,4% der Theorie).

Vers. 26 Entacetylierung mit kalter Kalilauge

5 g Acetylphlein wurden mit 250 ccm n/2 Kalilauge 24 Stunden mechanisch geschüttelt, wobei es sich vollständig auflöste. Die Lösung wurde mit verdünnter Essigsäure neutralisiert und mit Äthanol versetzt. Der Niederschlag hatte eine spezifische Drehung von —46,4°. Nach nochmaliger Umfällung war die Drehung —49,5°.

Ausbeute 2,6 g (94% der Theorie).

Der Versuch wurde mit weiteren 5 g des Acetates wiederholt. Das gewonnene Produkt besaß nach zweimaliger Umfällung eine spezifische Drehung von —49,8°.

Ausbeute 2,6 g (94% der Theorie).

C. KONSTANTEN DES PHLEINS

Vers. 27 Spezifische Drehung

Das entacetylierte Phlein (Vers. 25) wurde noch einmal mit Äthanol umgefällt, und die spezifische Drehung des Niederschlages sowie der Mutterlauge wurde bestimmt.

Niederschlag: $\alpha D = -49{,}8°$.
Mutterlauge: $\alpha D = -49{,}2°$.

Die spezifische Drehung des über das Acetat gereinigten Phleins stimmte also mit der des direkt gereinigten Produktes (αD —50,0°) praktisch überein.

Vers. 28 Teilchengröße

Es wurde die Teilchengröße des direkt und über die Acetylverbindung gereinigten Phleins nach der kryoskopischen Methode von Beckmann bestimmt.

Die Substanzproben wurden je dreimal mit der fünfzigfachen Menge Wasser abgedampft, 2 Stunden bei 40° im Wasserstrahlvakuum vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet.

a. Direkt gereinigte Substanz. $\alpha D = -49{,}8°$.

% Konz. d. Lösung	Depression	M
1,26	0,009°	2604
2,00	0,015°	2480
2,16	0,016°	2511
	Mittel =	2531

Entspr. 15—16 Fructoseresten

b. Über das Acetat gereinigte Substanz. $\alpha D = -49{,}6°$.

% Konz. d. Lösung	Depression	M
2,39	0,017°	2615
1,64	0,012°	2534
2,10	0,015°	2604
	Mittel =	2584

Entspr. 15—16 Fructoseresten

Die Ergebnisse für beide Substanzen stimmen miteinander gut überein.

Vers. 29 Halbumsatzzeit

Die Halbumsatzzeit wurde unter den von H. Knoop (33) ausgearbeiteten Normalbedingungen bestimmt. Die Substanzen wurden 2 Stunden bei 40° im Vakuum vorgetrocknet und 3 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet. Die Spaltung fand statt im Wasserbad, dessen Temperatur automatisch reguliert wurde.

a. Direkt gereinigte Substanz. $\alpha D = -49{,}8°$.

Einwage 0,8105 g, gelöst in 50 ccm n/1 Schwefelsäure, davon für jede Bestimmung 5 ccm. Normaltemp. 20°.

1 ccm $KMnO_4$ = 0,006836 g Cu. 0,0814 g Cu entsprechen 50-prozentiger Spaltung.

Reaktionsdauer Min.	ccm $KMnO_4$	g Cu	% Spaltung
125	7,00	0,0478	29,3
180	9,65	0,0659	40,3
235	12,00	0,0820	50,3
325	15,85	0,1083	66,7
435	18,50	0,1263	77,7

Halbumsatzzeit, graphisch ermittelt, *233 Minuten.*

b. Über das Acetat gereinigte Substanz. $\alpha D = -49{,}8°$.

Einwage 0,8105 g, gelöst in 50 ccm n/1 Schwefelsäure, davon für jede Bestimmung 5 ccm. Normaltemp. 20°.

1 ccm $KMnO_4$ = 0,006836 g Cu. 0,0814 g Cu entsprechen 50-prozentiger Spaltung.

Reaktionsdauer Min.	ccm $KMnO_4$	g Cu	% Spaltung
215	11,06	0,0756	46,2
265	13,10	0,0895	54,8
315	15,20	0,1039	63,5
380	17,20	0,1175	71,9
425	17,95	0,1227	75,5
1535	21,00	0,1435	87,8
2885	21,10	0,1442	88,3

Halbumsatzzeit, graphisch ermittelt, *236 Minuten.*

Vers. 30 Drehungsverlauf während der Hydrolyse

Gleichzeitig mit der Bestimmung der Halbumsatzzeit wurde die Veränderung in der spezifischen Drehung der Lösung des direkt gereinigten Phleins (Vers. 29a) verfolgt. Die spezifische Drehung wurde auf die Einwage berechnet.

(n/1 H_2SO_4, c = 1, 1 dm, t = 20°).

Reaktionsdauer Min.	α °	α D°	% Spaltung
65	—0,89	—54,9	9,2
120	—0,92	—56,8	12,9
185	—1,00	—61,7	22,2
260	—1,06	—65,4	29,3
295	—1,09	—67,2	32,5
338	—1,12	—69,1	36,2
385	—1,14	—70,2	38,5
455	—1,20	—74,0	45,5
1585	—1,52	—93,8	83,2
2890	—1,56	—96,2	87,7

Danach wurde eine 50-prozentige Spaltung nach 500 Minuten erreicht.

Wird nur Fructose als Baustein angenommen, und die spezifische Drehung der reinen Fructose zu —92,3° vorausgesetzt, ergab sich die theoretisch berechnete Enddrehugn des Hydrolsats zu α D = —102,6°.

Vers. 31 Aldosewert

Die zur Bestimmung der Halbumsatzzeit benutzte Lösung des direkt gereinigten Phleins (Vers. 29a) wurde gleichzeitig gebraucht, um festzustellen, ob die Substanz einen Gehalt an Aldose aufwies. Der Aldosewert wurde nach Auerbach-Bodländer (1) bestimmt. Für jede Bestimmung wurden 5 ccm Hydrolysat genommen, und der Aldosegehalt wurde aus der Differenz zwischen dem für das Hydrolysat gefundenen Wert und demjenigen einer ebenso behandelten Fructoselösung äquivalenter Konzentration berechnet.

Reaktionsdauer Min	Verbrauch ccm n/10 Jod			Aldosegehalt
	Phlein	Fructose	Diff.	
290	0,50	0,50	0	0
375	0,50	0,50	0	0
495	0,50	0,50	0	0
1480	0,75	0,72	0,03	0,66%
2890	0,80	0,75	0,05	1,10%

Da die erst nach 24 Stunden Reaktionszeit nachweisbare, geringe Menge an Aldose sehr wahrscheinlich von Umlagerung der Spaltprodukte herrührte, war anzunehmen, daß das Phlein praktisch keinen Aldosegehalt besaß.

Vers. 32 Reduktionswert (nach Bertrand)

a. Direkt gereinigtes Phlein: Einwage 0,3426 g,
Reduktionswert 0,242%
b. Über das Acetat gereinigt: Einwage 0,1988 g,
Reduktionswert 0,184%.

Zur Bestimmung des Reduktionswertes wurden die Substanzproben genau so wie zur Bestimmung der spezifischen Drehung vorbehandelt.

Vers. 33 Schmelzpunkt

a. Direkt gereinigte Substanz: Das Phlein besaß einen für die Polysaccharide verhältnismäßig scharfen Schmelzpunkt. Erst bei 210° fing es an, bräunlich zu werden und zu erweichen, um dann bei 220° zu einer klaren, dunkelbraunen Masse durchzuschmelzen.

b. Über das Acetat gereinigt: Die Substanz verhielt sich wie die direkt gereinigte. Der Schmelzpunkt lag bei 217°.

D. METHYLPHLEIN

Vers. 34 Methylierung

Die Methylierung erfolgte nach der Methode von Haworth und Streight (15), aber unter Ausschluß des Luftsauerstoffs (29).

10 g feinpulverisierten Phleinacetats wurden in 210 ccm trockenen Acetons in einem mit Rührwerk und Rückfluß versehenen Dreihalskolben aufgeschlämmt und unter Stickstoffeinleitung eine halbe Stunde bei 55° umgerührt. Der Stickstoffstrom wurde während des ganzen Versuches laufen gelassen. Zu der Suspension kamen unter kräftigem Rühren und Einhalten der Temperatur tropfenweise gleichzeitig 100 ccm frisch destillierten Dimethylsulfats und 260 ccm 30-prozentiger Natronlauge, wobei von jedem je ein Zehntel der angegebenen Menge in 10 Minuten zugegeben wurde. Während der vierten Zugabe der Reagenzien trat die Reaktion unter starkem Kochen ein. Das Reaktionsgemisch nahm danach allmählich die Gestalt einer dünnen, bräunlichen Emulsion an, welche beim Einstellen des Rührens sich in zwei Schichten auflöste.

10 Minuten nach der letzten Zugabe wurden 100 ccm Wasser zugesetzt, der Rückfluß wurde abgestellt und das Wasserbad wurde schnell auf 75° erwärmt. Unter ständigem Umrühren verseifte das überschüssige Dimethylsulfat im Wasser, und der Hauptteil des Acetons verdampfte. Der Rest des Acetons wurde bei 40° im Vakuum verjagt, wobei das Methylprodukt sich als weißer, grobflockiger Niederschlag ausschied und auf der Oberfläche schwamm. Es wurde von der noch warmen Lösung abgenutscht, mehrmals mit heißem (80°) Wasser nachgewaschen, um von anorganischen Verunreinigungen befreit zu werden, und über Chlorcalcium im Vakuum getrocknet.

Das Methylphlein war rein weiß und ließ sich leicht pulverisieren, wobei es wie das Acetat hochgradige Elektrisierbarkeit zeigte. Es hatte weder Geruch noch Geschmack, war sehr leicht löslich in Chloroform, spärlich löslich in heißem Aceton, heißem Benzol, heißem Äthanol und praktisch unlöslich in Wasser und in Äther. Es reduzierte die Fehlingsche Lösung nicht.

Um unnötige Verluste zu vermeiden, wurde das Acetat nur in kleinen Ansätzen methyliert. Insgesamt wurden 12 Ansätze verarbeitet, mit Ergebnissen wie folgt:

Nr.	Bezeichn.	g Acetat	g Methyl	% Ausbeute	% Methoxyl
1	MA	10	6,3	84,5	39,35
2	MB	5	3,0	84,3	39,05
3	MC	15	10,2	95,9	38,35
4	MD	15	6,5	61,1	40,13
5	ME	10	6,0	84,5	38,72
6	MF	12,5	7,4	79,0	39,63
7	MG	18	12,2	85,0	38,94
8	MH	12	7,3	85,7	39,03
9	MJ	10	6,5	91,5	37,66
10	MK	15	9,7	91,0	39,24
11	ML	10	6,9	97,1	38,90
12	MM	11	6,3	80,8	39,11

Der Methoxylgehalt wurde nach der Halbmikro-Zeisel-Methode (53, 38) an Proben bestimmt, die 2 Stunden bei 60° im Vakuum vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet worden waren

Alle Ansätze wurden nach demselben Verfahren nachmethyliert. Die Ergebnisse, im Bezug auf Methoxylgehalt, waren nicht zufriedenstellend.

Nr.	Bezeichnung	Ansatz	Ausbeute g	% OCH_3
1	NMA	3 g MA + 3 g MB	5,7	42,60
2	NMB	6,5 g MJ	6,3	43,10
3	NMC	12,2 g MG	12,0	42,10
4	NMD	9,7 g MK	9,2	44,21
5	NME	5 g MC + 7,3 g MH	12,2	43,70
6	NMF	5,2 g MC + 7 g ML	12,0	42,05

Alle waren zum zweiten Male nachmethyliert.

Nr.	Bezeichnung	Ansatz	Ausbeute g	% OCH_3
1	nMA	5,7 g NMA + 6,3 g NMB	11,7	45,10
2	nMB	9,2 g NMD + 4,0 g NME	12,0	44,94
3	nMC	9 g NMC	8,8	44,90
4	nMD	3 g NMC + 7 g NMF	9,7	45,54

Es wurde versucht, durch nochmalige Methylierung einen höheren Methoxylgehalt zu erzielen.

Nr.	Bezeichnung	Ansatz	Ausbeute g	% OCH_3
1	nA	8,8 g nMB + 6,7 g nMA	14,8	45,06
2	nB	8,8 g nMC + 9,7 g nMD	18,0	45,35

Vers. 35 Reinigung

Die Ansätze wurden getrennt durch zweimalige Umfällung mit kaltem Äther aus Chloroformlösung gereinigt. Das erhaltene Produkt war in jedem Falle schneeweiß und leicht pulverisierbar,

Methoxylgehalt: nA 45,18%
nB 45,42%

Vers. 36 Spezifische Drehung

Die spezifische Drehung wurde an einer Probe genommen, die 2 Stunden bei 60° im Wasserstrahlvakuum vorgetrocknet und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet worden war. Die Probe wurde in 3 Teile geteilt, und von jedem wurde die Drehung bestimmt (Chloroform, c = 1, 1 dm).

nA 1: $\alpha D = -57{,}7°$.
nA 2: $\alpha D = -57{,}8°$.
nA 3: $\alpha D = -57{,}4°$.

Die spezifische Drehung des Methylphleins ergab sich zu —57,7°.

Vers. 37 Schmelzpunkt

Das methylierte Phlein besaß einen ziemlich scharfen Schmelzpunkt. Es erweichte bei 168° und schmolz um 172° klar, ohne Zersetzung, durch.

Vers. 38 Teilchengröße

Die Teilchengröße des Methylphleins wurde kryoskopisch mit dem Beckmannschen Apparat bestimmt. Als Lösungsmittel diente theophenfreies Benzol.

Konzentration der Lösung: 1,290%,
Depression: 0,020°,
Mol.: 3280, entspr. 15 Frutoseresten.

Die Bestimmung verlief nicht so glatt, und das Ergebnis war wahrscheinlich nicht so zuverlässig wie im Falle des unsubstituierten Kohlenhydrats.

E. KONSTITUTION DES PHLEINS

Probespaltung

Vers. 39 Spaltung

7 g des reinen Methylproduktes (nMA) wurden in 330 ccm 96-prozentigen Alkohols gelöst, die Lösung wurde mit einer Auflösung von 4,5 g Oxalsäure in 120 ccm Wasser versetzt und am Rückfluß bei 85° gekocht. Von Zeit zu Zeit wurde eine Probe der Flüssigkeit herausgenommen, abgekühlt und zur Bestimmung der spezifischen Drehung benutzt. Nach der Bestimmung wurde die Probe zurückgegossen.

Kochzeit Std.	α ° (1 dm)
15	—0,16
18	—0,36
21	—0,36

Als die konstante Enddrehung erreicht war, wurde die abgekühlte Lösung, in welcher die ganze Menge Methylphlein gelöst war, mit Natriumbicarbonat-Lösung neutralisiert und von ausgefallenen Salzen abfiltriert. Die Flüssigkeit wurde bei 40° im Vakuum abgedampft, der Rückstand wurde mit einem Alkohol-Benzolgemisch geschüttelt und im Vakuum getrocknet. Das wasserfreie Produkt wurde zuerst mit Aceton, dann mit Chloroform erschöpfend ausgezogen. Die Acetonauszüge wurden eingedampft und kurz getrocknet. Der zurückgebliebene Syrup wurde in Chloroform aufgelöst, zu den übrigen Chloroformauszügen vereinigt und abfiltiert. Schließlich wurde das Chloroform im Vakuum abgedampft. Es hinterblieb ein dicker, brauner Syrup.

Zur Spaltung eventuell gebildeter Fructoside wurde der Syrup in 100 ccm 0,25-prozentiger Salzsäure gelöst und 2 Stunden bei 80° erwärmt. Nach Neutralisation mit Natriumbicarbonat und Eindampfen im Vakuum bei 40° wurden die Spaltprodukte mit Aceton und Chloroform extrahiert und wie oben behandelt. Das erhaltene Produkt wurde bei 40° im Vakuum getrocknet.

Ausbeute 5,0 g (noch chloroformhaltig).

Vers. 40 Hochvakuumdestillation

Das Gemisch der Spaltprodukte wurde einer fraktionierten Destillation im Hochvakuum unterworfen. Die Falle wurde mit flüssiger Luft gekühlt, und die Vorlage mit Eis-Kochsalz-Mischung auf einer Temperatur von rund —10° gehalten. Die Destillation hatte folgendes Ergebnis:

Fraktion 1: Badtemp. 100°, Innentemp. 84°, Druck 0,01 mm
Destillat: wasserklarer. farbloser Syrup; Menge 1,8 g

Fraktion 2: Badtemp. 110°, Innentemp. 88—92°, Druck 0,01 mm
Destillat: Wasserklarer, farbloser Syrup; Menge 0,8 g.

Fraktion 3: Badtemp. 160°, Innentemp. 92—100°, Druck 0,03—0,05 mm
Destillat: farbloser Syrup; Menge 0,4 g.

Rückstand: dunkelbraun, trocken. Etwa 2,0 g.

Vers. 41 Untersuchung der Destillate

Die Brechungsexponenten der drei Fraktionen wurden bestimmt.

Fraktion 1: nD = 1,4640.
Fraktion 2: nD = 1,4660.
Fraktion 3: nD = 1,4636.

Über Nacht im Eisschrank stehen gelassen, erstarrten alle drei Destillate zu festen Massen von Kristallnadeln. Die Kristalle wurden einzeln aus Tetrachlorkohlenstoff umkristallsiert, auf Ton getrocknet und zur Schmelzpunktbestimmung genommen.

Fraktion: 1 Schmp. 73°
Fraktion 2: Schmp. 73°.
Fraktion 3: Schmp. 71°.

Die Kristalle in den Destillaten waren höchstwahrscheinlich identisch.

Methoxylbestimmung der Kristalle ergab 42,26%. Es handelte sich daher um Trimethylfructose (theoret. Gehalt an Methoxyl 41,9%). Auch der Brechungsexponent bewies dasselbe.

Bestimmung der spezifischen Drehung der Kristalle führte zu folgenden Ergebnissen (Enddrehung nach der Mutarotation):

in absolutem Methanol, —24,1° (c = 1, 1 dm),

in Chloroform, +19,0° (c = 1, 1 dm).

Die Kristalle stimmten in Eigenschaften mit der 1, 3, 4-Trimethylfructose (30, 16, 21) überein.

Zur Untersuchung des Rückstandes im Destilliergefäß wurde er mit Chloroform extrahiert und durch Abdampfen im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Eine dunkelbraune, syrupartige Flüssigkeit blieb zurück. Sie hatte einen Brechungsexponenten von nD 1,4810, enthielt also vorwiegend Dimethylfructose (nD 1,486).

Da Tetramethylfructose in den Spaltprodukten nicht nachweisbar war, konnte es mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß die Dimethylfructose kein eigentlicher Bestandteil des Methylphleins war, sondern von unvollkommener Methylierung herrührte.

Aus den Ergebnissen konnte gefolgert werden, daß die Säurehydrolyse des Methylphleins sehr wahrscheinlich nur ein einziges Spaltprodukt, die 1, 3, 4-Trimethylfructose, lieferte. Weitere Maßnahme zur Trennung der Spaltprodukte, wie z. B. Fructosidifizierung, Benzoylierung oder Naphthoylierung, erübrigten sich. Jedenfalls, um die An- oder Abwesenheit anderer Spaltprodukte als Trimethylfructose genauer beweisen zu können, wurde eine größere Menge des Methylphleins gespalten und quantititiv aufgearbeitet.

Hauptspaltung

Vers. 42 Spaltung

30 g reinen Methylphleins (Methoxylgehalt 45,27%) wurden mit Oxalsäure gespalten und mit Salzsäure nachgespalten, wie unter „Probespaltung" (Vers. 39) beschrieben. Sie ergaben 28,0 g Spaltprodukte, die aber noch chloroformhaltig waren.

Der erhaltene Syrup wurde in das Spezialdestilliergefäß übertragen, und das Lösungsmittel wurde bei 30° im Vakuum abgedampft. Sobald die Hauptmenge des Chloroforms verjagt war, erstarrte die Substanz zu einer scheinbar trocknen Masse von sternförmigen Kristallnadeln.

Vers. 43 Hochvakuumdestillation

Die Destillation wurde unter denselben Bedingungen wie bei der Probespaltung vorgenommen, nur wurde durch den Einsatz von zwei hintereinander geschalteten Pumpen ein besseres Vakuum erzielt.

Es wurden 3 Fraktionen aufgefangen.

Fraktion 1: Badtemp. 122°, Innentemp. 95—97°, Druck 0,01 mm. Destillat: dünnflüssiger Syrup, vom Übergespritzten hellbraun gefärbt; Menge 1,170 g.

Fraktion 2: Badtemp. 124—128°, Innentemp. 98—102°, Druck 0,01 mm. Destillat: dünnflüssiger Syrup, vom Übergespritzten hellbraun gefärbt; Menge 22,210 g.

Fraktion 3: Badtemp. 135—180°, Innentemp. 92—96°, Druck 0,03 mm. Destillat: dünnflüssiger Syrup, vom Übergespritzten dunkelbraun gefärbt; Menge 2,676 g.

Rückstand: Schwarzbraun, trocken; Menge 2,5 g.

Untersuchung der Destillate

Die Fraktionen zeigten folgende Brechungsexponenten:

Fraktion 1: nD = 1,4633.
Fraktion 2: nD = 1,4645.
Fraktion 3: nD = 1,4680.

Über Nacht im Eisschrank stehen gelassen, kristallisierten alle Fraktionen durch. Die Kristalle wurden abgenutscht, mit wenig kaltem Äther nachgespült und gesammelt. Die Mutterlaugen und der Spüläther von den Fraktionen 1 und 2 wurden vereinigt, die von Fraktion 3 wurden für sich untersucht.

Vers. 44 Untersuchung der Kristalle

Die Kristalle wurden aus Äther umkristallisiert, abgenutscht und auf Ton getrocknet. Dasselbe wurde wiederholt, bis ein konstanter Schmelzpunkt erreicht war.

Schmelzpunkt: 75°.

Die Kristalle waren schneeweiße Nadeln, die beim Auskristallisieren schöne Sternchen bildeten. Sie besaßen einen sehr bitteren Geschmack.

Eine kleine Menge wurde durch gelindes Erwärmen zum Schmelzen gebracht. Der Brechungsexponent der Flüssigkeit wurde bestimmt:

nD = 1,4650.

Methoxylbestimmung der pulverisierten Kristalle ergab:

OCH_3 = 42,10%. (Theor. für Trimethylfructose = 41,9%).

Die spezifische Drehung wurde in verschiedenen Lösungsmitteln bestimmt (c = 1, 1 dm):

in Wasser, $\alpha D = -47{,}6°$,
in absol. Methanol, $\alpha D = -24{,}1°$,
in Chloroform, $\alpha D = +19{,}0°$.

Alle Werte sind Enddrehungen nach der Mutarotation.

Die Eigenschaften der Kristalle stimmten mit denjenigen für 1, 3, 4-Trimethylfructose (von Hibbert und Haworth beschrieben) überein.

Vers. 45 Die Mutterlauge der ersten zwei Fraktionen

Die vereinigten Mutterlaugen der Fraktionen 1 und 2 wurden durch Abdampfen im Vakuum vom überschüssigen Äther befreit. Durch Wiederauflösen und Animpfen mit Kristallen von 1, 3, 4-Trimethylfructose wurde der braune Syrup zum Kristallisieren gebracht. Die Kristalle wurden abgetrennt, die Mutterlauge weiter eingeengt, wieder zum Kristallisieren gebracht, u. s. w., bis sich kein Kristall mehr ausschied. Der Brechungsexponent sowie die Menge der Mutterlauge wurden ständig verfolgt.

1. nD 1,4585; Menge 10,4 g.
2. nD 1,4634; Menge 9,5 g.
3. nD 1,4650; Menge 2,6 g.
4. nD 1,4650; Menge 1,0 g.
5. nD 1,4655; Menge 0,5 g.
6. nD 1,4660; Menge 0,4 g.
7. nD 1,4667; Menge 0,35 g.

Aus der letzten Fraktion konnte keine Kristallisation mehr erzielt werden.

Methoxylbestimmung des zurückgebliebenen, braunen Syrups ergab:

$OCH_3 = 42{,}21\%$.

Der Brechungsexponent sowie der Methoxylgehalt bewiesen, daß der Syrup reine Trimethylfructose war.

Tetramethylfructose konnte nicht nachgewiesen werden.

Vers. 46. Die Mutterlauge der letzten Fraktion

Die Untersuchung verlief in ähnlicher Weise wie im vorigen Versuch beschrieben.

1. nD 1,4670; Menge 2,1 g.
2. nD 1,4690; Menge 1,8 g.
3. nD 1,4700; Menge 0,8 g.
4. nD 1,4715; Menge 0,3 g.

Methoxylbestimmung der letzten, nicht mehr kristallisierenden Fraktion ergab:

$OCH_3 = 39{,}41\%$.

Danach berechnete sich der Gehalt der Fraktion an Dimethylfructose zu 39% oder 0,117 g.

Auch der Brechungsexponent war Beweis für einen kleinen Gehalt an Dimethylfructose.

Vers. 47 Der Rückstand im Destilliergefäß

Der schwarzbraune Rückstand im Destilliergefäß wurde erschöpfend mit Chloroform ausgezogen und der Auszug durch Abdampfen im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Ein dunkelbrauner Syrup blieb zurück. Er hatte einen Brechungsexponenten von

nD 1,4962.

(Dimethylfructose nD 1,486).

Nach zweistündigem Trocknen bei 60° im Hochvakuum, stieg der Brechungsexponent noch höher zu 1,5370.

Die Menge der Substanz betrug 0,31 g, der Methoxylgehalt 29,53% (Dimethylfructose $OCH_3 = 29{,}8\%$).

Der Syrup bestand daher aus fast reiner Dimethylfructose.

Wenn die Menge dieses Rückstandes zu der der berechneten Dimethylfructose in der Mutterlauge der dritten Fraktion (Vers. 46) hinzugefügt wurde, ergab sich der Gehalt des Hydrolysats des Methylphleins (28,556 g) an Dimethylfructose zu höchstens 0,427 g oder 1,6%.

Das zur Spaltung angesetzte Methylprodukt hatte einen Methoxylgehalt von 45,27%, welches einem Dimethylgehalt von 1,9% entsprach.

SCHRIFTTUM

1. *Fr. Auerbach und E. Bodländer*, Z. Angew Chem. **36**, 602 (1923).
2. *C. Bandmann*, Diss., Hamburg (1939).
3. *A. Beiser und H. Pringsheim*, B. 66, 1296 (1933).
4. *D. J. Bell*, Bioch. J. 26, 598 (1933).
5. *M. Bergmann, E. Kuche, E. v. Lippmann*, A. 458, 93 (1927).
6. *H. Böe*, Diss., Hamburg (1937).
7. *A. G. Ekstrand und C. J. Johanson*, B. 20, 3310 (1887).
8. *A. G. Ekstrand und C. J. Johanson*, B. 21, 594 (1888).
9. *A. G. Ekstrand und R. Mauzelius*, Chem. Z. 13, 1302, 1337 (1889).
10. *W. Elvers*, Diss., Hamburg (1939).
11. *K. Freudenberg*, B. 54, 767 (1921).
12. *K. Freudenberg*, Chem. Z. 59, 505 (1935).
13. *U. Hanneck*, Hamburg, unveröffentlicht.
14. *W. N. Haworth und A. Learner*, Soc. 130, 619 (1928).
15. *W. N. Haworth und H. R. L. Streight*, Helv. 15, 609 (1932).
16. *W. N. Haworth H. Raistrick und M. Stacey*, Bioch. J. 612 (1935).
17. *W. N. Haworth und H. Machemer*, Soc. 134, 2272 (1932).
18. *W. N. Haworth, H. Machemer*, Soc. 134, 2372 (1932).
19. *W. N. Haworth und E. G. V. Percival*, Soc. 134, 2277 (1932).
20. *W. N. Haworth, E. L. Hirst, E. G. V. Percival*, Soc. 134, 2384 (1932).
21. *W. N. Haworth, S. W. Challinor und E. L. Hirst*, Soc. 136, 676 (1934).
22. *W. N. Haworth, E. L. Hirst und E. Oliver*, Soc. 136, 1917 (1934).
23. *W. N. Haworth, S. W. Challinor und E. L. Hirst*, Soc. 139, 1560 (1934).
24. *W. N. Haworth, E. L. Hirst, D. K. Baird*, Soc. 137 1201 (1935).
25. *W. N. Haworth, E. L. Hirst, M. D. Woolgar*, Soc. 137, 177 (1935).
26. *K. Heß, W. Weltzin und E. Meßmer*, A. 435, 1 (1924).
27. *K. Heß und G. Schultze*, A. 448, 99 (1926).
28. *K. Heß und R. Stahn*, A. 455, 104 (1927).
29. *K. Heß und Fr. Neumann*, B. 70, 738 (1937).
30. *H. Hibbert, R. S. Tipson und F. Brauns*, Canad. J. Res. **4**, 221 (1931).
31. *J. C. Irwine und T. N. Montgomery*, Am. Soc. 55, 1988 (1933).
32. *H. Knoop*, Diss., Hamburg (1932).
33. *H. Knoop*, A. 520, 34 (1935).
34. *K. Koenig*, Diss., Hamburg (1935).
35. *H. Lendzian*, Diss., Hamburg (1938).
36. *M. Y .Liu*, Diss., Hamburg (1934).
37. *W. Loop, Diss.*, Hamburg (1936)).
38. *F. Neumann*, B. 70, 734 (1937).
39. *H. Peitzner*, Diss., Hamburg (1937).
40. *H. Pringsheim, A. Aronowsky*, B. 54, 1281 (1921).
41. *H. H. Schlubach und H. Elsner*, B. 62, 1493 (1929).
42. *H. H. Schlubach und H. Knoop*, A. 497, 208 (1932).
43. *H. H. Schlubach, H. Knoop, M. Y. Liu*, A. 504, 30 (1933).
44. *H. H. Schlubach, H. Knoop, M. Y. Liu*, A. 511 149 (1934).
45. *H. H. Schlubach und K. Koenig*, A. 514, 182 (1934).
46. *H. H. Schlubach und W. Loop*, A. 523, 130 (1936).
47. *H. H. Schlubach und H. Böe*, A. 532, 191 (1937).
48. *H. H. Schlubach und C. Bandmann*, A. 540, 285 (1939).
49. *H. Schmidt*, Diss., Hamburg (1935).
50. *H. Staudinger und M. Lüthy*, Helv. 8, 41 (1925).
51. *H. Staudinger*, Z. physik. Chem. 126, 425 (1927).
52. *S. Veibel*, Bioch. J. 1949 (1938).
53. *F. Vieböck, A. Schwappach und C. Brecher*, B. 63, 2818, 3201 (1930).
54. *G. Zemplén und E. Pacsu*, B. 62, 1613 (1926).

LEBENSLAUF

Als Sohn des Herrn Luang Sri Navabala (Uh Ketu-Sinh) wurde ich am 3. September 1908 in Bangkok, Thailand (Siam) geboren. Ich besuchte die Regierungsschulen Chakrawardi, Bopitrapimuk und Suan Kularb in meiner Heimatstadt und erhielt nach elfjähriger Schulzeit das Reifezeugnis im März 1924. 1926 begann ich das Studium der Medizin an der Chulalongkorn Universität zu Bangkok, wo ich im März 1933 die Abschlußprüfung ablegte und den Grad Medicinae baccalaureus erhielt. Darauf arbeitete ich als Assistent in dem Physiologischen Universitätsinstitut und erwarb mir im März 1936 den medizinischen Doktorgrad. Im Oktober 1936 kam ich als Stipendiat der Alexander von Humboldt-Stiftung nach Hamburg, wo ich, nach einer zeitweiligen Tätigkeit als Volontärassistent im Physiologischen Institut, mich hauptsächlich dem Studium der Chemie widmete. Anfang Juni 1937 bestand ich den ersten Teil des Verbandsexamens. Im Herbst des Jahres nahm ich an dem tropenmedizinischen Kursus im Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten teil und legte die Diplomabschlußprüfung mit Erfolg ab. Ende Oktober 1938 bestand ich den zweiten Teil des Verbandsexamens und nahm anschließend die vorliegende Arbeit auf.

Während meines Studiums an der Hansischen Universität habe ich die Vorlesungen und Praktika folgender Dozenten besucht: Endres, Esdorn, Harteck, Keeser, Kindler, Koch, Martini, Mond, Mühlens, Nauck, Reichenow, Schlubach, Schmalfuß, Sonnenschein, Vogel, Weise, Winkler.

Bisher veröffentlichte wissenschaftliche Arbeiten:

1. The Reaktion of Panchax panchax Hamilton (Pla Hua Takua) to lethal Doses of Digitalis. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizinischen Fakultät, Chulalongkorn Universität, Bangkok, 1936.
2. The Effect of Pla Rah on Growth. Medical Journal of the Medical Association of Siam, XIX, 3, Sept. 1936.
3. Eine Auswertungsmethode für Digitalis (in Thai Sprache). Ebenda.
4. A Pharmacological Study of Miang Leaves. Medical Journal of the Medical Association of Siam, XXI, 2, July 1938.
5. Observation on 98 Cases of Galactose Tolerance Tests (Mit Chod Nidiprabha). Ebenda.

Hamburg, im November 1939.

Ouay Ketu-Sinh